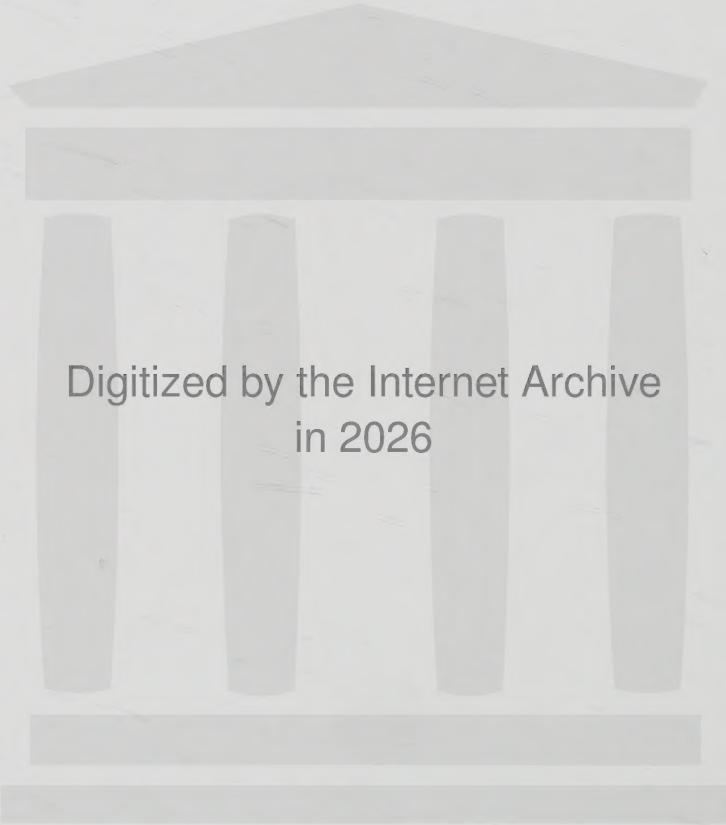


Norbert Schilling

**Zur Biosynthese und Physiologie von L-Quebrachit in *Acer
pseudo-platanus* L.**

1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553809_0004

Zur Biosynthese und Physiologie von L-Quebrachit in *Acer*
pseudo-platanus L.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Fakultät für Biologie
der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt
von
Norbert Schilling
aus
München

Juni 1973



1. Berichterstatter: Prof.Dr.O.Kandler
2. Berichterstatter: Prof.Dr.E.Beck

Tag der mündlichen Prüfung: 12. 11. 1973

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
2.	Material und Methoden	7
2.1.	Pflanzenmaterial	7
2.2.	Applikation von $^{14}\text{CO}_2$ an Blätter	7
2.2.1.	Bei Laborversuchen	7
2.2.2.	Bei Dauerversuchen am Standort	8
2.3.	Applikation von ^{14}C -uniform markierten Verbindungen	8
2.4.	Trenn- und Meßverfahren	9
2.4.1.	Extraktion	9
2.4.2.	Papierchromatographie	9
2.4.3.	Dünnschichtchromatographie	9
2.4.4.	Hochspannungselektrophorese	10
2.4.5.	Lokalisation der Verbindungen auf den Chromatogrammen	11
2.4.6.	Messung gelöster radioaktiver Verbindungen	11
2.4.7.	Messung radioaktiver Verbindungen auf den Chromatogrammen	12
2.4.8.	Messung von $^{14}\text{CO}_2$	12
2.5.	Darstellung von ^{14}C -uniform markierten Verbindungen	13
2.6.	Quantitative Bestimmungen	13
2.6.1.	Saccharose	13
2.6.2.	L-Quebrachit	14
2.7.	Verwendete Chemikalien und authentische Referenzsubstanzen	14

3.	Ergebnisse und Diskussion	15
3.1.	Biosynthese von L-Quebrachit	15
3.1.1.	In Blättern von <i>Acer pseudo-platanus</i>	15
3.1.1.1.	Vorkommen und bisherige Untersuchung über die Biosynthese von L-Quebrachit	15
3.1.1.2.	Identifizierung von D-Bornesit	16
3.1.1.3.	Bildung und Umsatz der Inosite	17
3.1.1.3.1.	Bildungsgeschwindigkeit im Frühjahr	17
3.1.1.3.2.	Verhalten über den Sommer	20
3.1.1.4.	Applikation von verschiedenen Inositen an Blätter von <i>Acer pseudo-platanus</i>	23
3.1.2.	In Blättern von <i>Artemisia vulgaris</i>	25
3.1.2.1.	Bildung und Umsatz der Inosite	25
3.1.2.2.	Applikation von verschiedenen Inositen an Blätter von <i>Artemisia vulgaris</i>	28
3.1.3.	Diskussion der Ergebnisse	31
3.2.	Physiologie von L-Quebrachit	36
3.2.1.	Abhängigkeit des Gehalts an L-Quebrachit von der Tages- bzw. Jahreszeit	36
3.2.1.1.	Im Blatt	38
3.2.1.2.	Im Sproß	40
3.2.1.3.	Im Blutungssaft	42
3.2.2.	Der Einfluß des Blattalters auf die Bildung der Methylinosite	44
3.2.3.	Ableitung der Inosite vom Blatt in die Wurzel	45
3.2.3.1.	Aktivitätsverteilung auf die Transportstrecke	46
3.2.3.2.	Aktivitätsverteilung auf einzelne Substanzen	47
3.2.3.3.	Ableitung von L-Quebrachit bei Zufuhr durch das Blatt	53
3.2.4.	Untersuchungen über die Wiederverwendung der Inosite	55
3.2.4.1.	Versuche mit Knospen-tragenden Zweigstücken im Winter und Frühjahr	55

3.2.4.2.	Versuche mit Blatt-tragenden Zweigstücken im Sommer	60
3.2.4.2.1.	Applikation von L-Quebrachit	60
3.2.4.2.2.	Applikation von myo-Inosit, D-Bornesit und L-Quebrachit	62
3.2.5.	Diskussion der Ergebnisse	70
4.	Zusammenfassung	76
5.	Literaturverzeichnis	79
6.	Anhang	84

1. Einleitung

Michel führte 1932 die Bezeichnung Cyclite als Sammelbegriff für alle isocyclischen Polyalkohole ein, deren Hydroxylgruppen an die Ringkohlenstoffe gebunden sind.

Die Gruppe der Cyclohexanhexole oder Inosite ist am besten untersucht. Von den neun möglichen Isomeren sind bisher vier Inosite (siehe Abb. 3) in der Natur gefunden worden (Scherer 1850, Staedeler und Frerichs 1858, Girard 1871, Tanret 1889). Die bekannteste Form ist der myo-Inosit, der für bestimmte Säugetiere und auch für manche Kulturen menschlicher Zellen ein Vitamin bzw. einen Wachstoffsstoff darstellt (Wooley et al. 1940, Eagle et al. 1957). Sein Vorkommen scheint absolut ubiquitär zu sein (Fletcher 1948, Angyal 1959).

Von den zahlreichen komplexen Verbindungen, die myo-Inosit oder eine seiner epimeren Formen als Bestandteil enthalten, werden in den Pflanzen besonders die O-Methylino-site gebildet. Sie konnten bisher in zum Teil erheblichen Mengen (bis über 1 % des Frischgewichtes) aus etwa 40 Familien der Gymnospermen und Angiospermen isoliert werden (Plouvier 1963, Kindl und Hoffmann-Ostenhoff 1966).

In den letzten Jahren wurden, vor allem aus taxonomischem Interesse verstärkte Anstrengungen gemacht, um die Verteilung

der Methylinosite im Pflanzenreich weiter kennenzulernen. Jedoch bleibt auf diesem Gebiet noch sehr viel zu tun. So gibt es zahlreiche Pflanzenfamilien, die bisher überhaupt noch nicht auf diese Stoffklasse hin untersucht wurden. Hinzu kommt, daß oft nur ein Cyclit als Inhaltsstoff beschrieben wurde, bei Anwendung moderner Verfahren jedoch häufig weitere Methylderivate in geringeren Mengen nachgewiesen werden können (Plouvier 1963).

Die Abbildung 3 enthält alle bisher in der Natur gefundenen und ausreichend charakterisierten Inosite und deren Mono- bzw. Dimethyläther, wobei auch die biogenetischen Zusammenhänge dargestellt sind (Anderson und Wolter 1966, Kindl 1969, Dittrich und Kandler 1971). In der Abbildung 3 sind auch bereits die Ergebnisse dieser Arbeit berücksichtigt.

Demnach gibt es ausgehend vom myo-Inosit zwei Wege für die Bildung der O-Methylinosite. Myo-Inosit kann entweder direkt mit dem Methylendonator S-Adenosylmethionin methyliert werden (Wagner 1969), um dann eventuell zu einem epimeren Methylinosit umgewandelt zu werden, oder aber myo-Inosit wird zunächst epimerisiert und dann methyliert.

In der vorliegenden Arbeit sollte zunächst untersucht werden, welche der beiden Möglichkeiten bei der Bildung des Monomethyläthers L-Quebrachit (2-O-Methyl-L-Inosit) in *Acer pseudo-platanus* verwirklicht ist.

Die weiteren Untersuchungen dieser Arbeit konzentrierten sich darauf, die physiologische Bedeutung von L-Quebrachit bei *Acer pseudo-platanus* aufzuhellen.

Hinsichtlich der Ableitung von Methylcycliten gibt es keine Beweise aus der Literatur, doch deuten einige Befunde daraufhin. So konnten die verschiedensten Methylcyclite nicht nur aus Blättern sondern auch aus der Rinde, aus dem Holz und aus dem Kambialsaft

isoliert werden. So fand De Jong (1906) größere Mengen von L-Quebrachit im Latex von *Hevea brasiliensis*.

Anderson und Wolter (1966) stellten im Holz von *Pinus lambertiana* Pinit bis zu 9 % des Trockengewichtes fest. Stinson et al. (1967) verfolgten den Gehalt an L-Quebrachit im Blutungssaft von *Acer saccharinum* während des Winters und Frühjahrs. Dabei stellten sie eine starke Konzentrationsabnahme unmittelbar vor dem Blattaustrieb fest.

Für den Abbau von Methylcycliten können bei Pflanzen zwei Möglichkeiten in Betracht gezogen werden, einmal die Demethylierung zu den unsubstituierten Inositen mit anschließender Ringöffnung oder sofortige Ringöffnung der Methyläther zu den entsprechenden Methyluronsäuren.

Die Demethylierung von D-Pinit zu D-Inosit konnten Scholda et al. (1964) in mehreren Pflanzen zeigen. Nach den bisherigen Befunden scheint dies der einzige oder zumindest wichtigste Biosyntheseweg für D-Inosit in höheren Pflanzen zu sein (siehe auch Dittrich und Kandler 1971). Kindl und Hoffmann-Ostenhof (1966) verfütterten D-Bornesit an *Myosotis arvensis* und *Borago officinalis*. Sie fanden als Umwandlungsprodukte "Kohlenhydrate mit Säurecharakter". Eine Demethylierung zu myo-Inosit konnten sie nicht feststellen. Die anderen in der Natur vorkommenden Methylcyclite, darunter auch die beiden der L-Reihe, L-Pinit und L-Quebrachit, wurden daraufhin noch nicht untersucht.

Die Umwandlung von myo-Inosit-2-¹⁴C in Glucuronsäure-5-¹⁴C durch oxydative Ringöffnung zwischen den C-Atomen 1 und 6 (Abb. 1), konnte Loewus im Blättern von *Petroselinum* und unreifen Früchten von *Fragaria* zeigen. (1962, 1963).

Das dazugehörige Enzym, die myo-Inosit Oxygenase isolierte Gruhner et al. (1968) aus Keimlingen von *Avena sativa*. Dieses Enzym zeigte eine breitere Spezifität. Es greift nämlich sämtliche in der Natur

vorkommenden isomeren Inosite, eine Anzahl von Inositmono- und -dimethyläthern sowie verschiedene isomere Pentahydroxycyclohexanone an, wobei in allen Fällen O-methylierte oder nicht methylierte Uronsäuren entstehen.

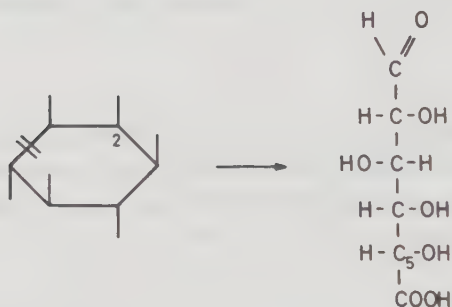


Abb. 1: Die oxydative Ringöffnung von myo-Inosit

Den direkten Abbau von Methylcycliten zu den entsprechenden Methyluronsäuren als Vorläufer der Pectine postulierte Loewus (1964, 1965) in mehreren Publikationen (Abb. 2). Spätere Versuche

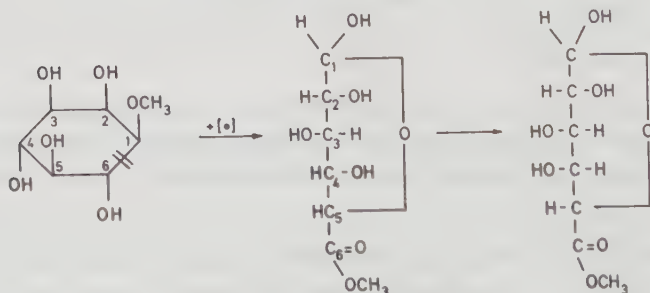


Abb. 2: Die oxydative Ringöffnung von D-Bornesit nach der Hypothese von Loewus (1965)

desselben Autors scheinen aber diese Vorstellung nicht zu bestätigen, da er keinen Einbau von DL Bornesit in Zellwandpolysaccharide bei *Zea mays* beobachten konnte. Kauss und Hassid zeigten 1967, daß die Methylierung der Uronsäuren erst auf der Stufe der Makromoleküle durch Transmethylierung über S-Adenosylmethionin erfolgt, wodurch die von Loewus aufgestellte Hypothese erneut in Frage gestellt werden muß.

In Anbetracht der relativ wenigen und unsicheren Angaben über Umsatz und Wiederverwertung der Methylinosite schien uns eine eingehendere Untersuchung über das Schicksal von L-Quebrachit in *Acer pseudo-platanus* besonders wichtig.

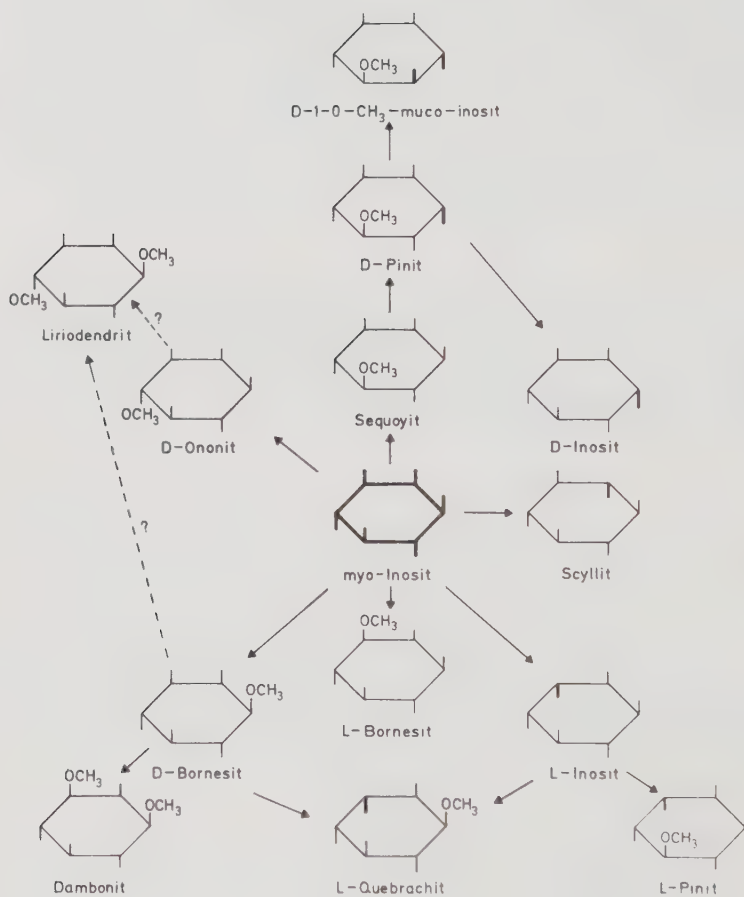


Abb. 3; Biosynthese der Methylinosite

2. Material und Methoden

2.1 Pflanzenmaterial

Für die Kurzzeitkinetik der $^{14}\text{CO}_2$ -Assimilation und die länger dauernden $^{14}\text{CO}_2 \rightarrow ^{12}\text{CO}_2$ Verdrängungsexperimente mit *Acer pseudo-platanus* wurden die Blätter eines 5-jährigen Baumes aus dem Botanischen Garten München, Nymphenburg verwendet.

Auch alle übrigen, in dieser Arbeit verwendeten Pflanzen wurden freundlicherweise vom Botanischen Garten zur Verfügung gestellt.

2.2 Applikation von $^{14}\text{CO}_2$ an Blätter

2.2.1 Bei Laborversuchen

Um über kurze Zeiten (2 min. - 6 Std.) die Markierung der Blattinhaltsstoffe bei Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ zu verfolgen, wurde die bei Kandler (1964) beschriebene Anlage verwendet. Die Küvette mit dem assimilierenden Blatt stand dabei in einem Wasserbad mit konstanter Temperatur (24°C). Die Beleuchtungsstärke betrug jeweils 20 000 Lux. Nach bestimmten Zeiten wurde die Küvette geöffnet, Blattstücke abgeschnitten und sofort in kochendem Aceton abgetötet.

2.2.2 Bei Dauerversuchen am Standort

Hierbei wurde die bei Dittrich (1970) beschriebene Versuchsanordnung benützt. Bei unseren Versuchen mit *Acer pseudo-platanus* wurde eine geeignete Zweigspitze mit der gewünschten Anzahl von Blättern mit einem Polyäthylenbeutel umgeben. Aus radioaktivem $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ wurde mit Hilfe von 50%iger Phosphorsäure $^{14}\text{CO}_2$ entwickelt. Nach der vorgesehenen Photosynthesedauer wurde der Plastikbeutel entfernt und zugleich die erste Blattsammelprobe entnommen. Die weiteren Probeentnahmen, die in immer länger werdenden Zeitabständen erfolgten, wurden jeweils zwischen 17 und 18 Uhr durchgeführt.

2.3 Applikation von ^{14}C markierten Verbindungen

^{14}C -uniform markierte Verbindungen wurden an Blätter, Zweigstücke mit terminaler Knospe oder Blatt verfüttert. Die Blätter wurden bei diesen Versuchen auf wenige cm^2 zugeschnitten, um eine Verdünnung der Radioaktivität zu vermeiden. Die Pflanzenteile wurden in 200 μl der Applikationslösung eingestellt und mit 20 000 Lux belichtet. Nach Aufnahme der radioaktiven Lösung (ca. 2 - 6 Std.) wurde bis zum Versuchsende Leitungswasser nachgegeben. Bei Fütterungen, die sich über mehrere Tage erstreckten, wurde der Applikationslösung 200 μg Penicillin G-Na pro ml hinzugefügt.

Bei einigen Versuchen wurde das von der Pflanze exhalierete $^{14}\text{CO}_2$ gemessen. Zu diesem Zweck befand sich das Fütterungsgläschen mit dem eingestellten Pflanzenstück in einem durch einen Gummistopfen und Knetwachs verschlossenen Erlenmeyer-Kolben (100 ml). Während der gesamten Versuchsdauer wurde der abgeschlossene Raum gleichmäßig mit Luft durchströmt und das freiwerdende $^{14}\text{CO}_2$ mit Kalilauge abgefangen (siehe Abb. 21).

2.4 Trenn- und Meßverfahren

2.4.1 Extraktion

Zur Extraktion wurden die Pflanzen oder Pflanzenteile zerkleinert, anschließend zweimal mit 50%igem siedendem Aceton, dann zweimal mit destilliertem Wasser ausgekocht. Schwer extrahierbare Gewebe - insbesondere Holzstücke - wurden entsprechend öfter mit dem Extraktionsgemisch behandelt.

2.4.2 Papierchromatographie

Die ein- und zweidimensionalen Trennungen wurden auf Whatmanpapier Nr. 1 mit dem Format 46 cm x 57 cm absteigend bei 25° C durchgeführt. Bei größeren Substanzmengen wurde Whatman Nr. 3 verwendet.

Dabei wurden folgende Fließmittelgemische benützt:

1. n-Butanol-Wasser (Lsg. 1) : Propionsre.-Wasser (Lsg.2) = 1:1
Lsg. 1 : n-Butanol : Wasser = 750:50 (v/v)
Lsg. 2 : Propionsre. : Wasser = 352:448 (v/v)
2. 88 % (w/w) Phenol : Wasser : Eisessig : 1 m Na₂EDTA =
440:160:10:1 (v/v)
3. n-Butanol : Pyridin : Wasser : Eisessig = 60:40:30:3 (v/v)

Bei der zweidimensionalen Chromatographie wurden die Fließmittelgemische zu folgenden Systemen kombiniert:

- System I: 1 + 2
System II: 1 + 3
System III: 2 + 3

2.3.3 Dünnschichtchromatographie

Für analytische Zwecke wurde auch die zeitsparende Dünnschichtchromatographie durchgeführt. Das Laufmittel für die Zellulose-

Dünnschicht-Alu Folien war:

Aceton : Wasser = 85:15 (v/v)

2.3.4 Hochspannungselektrophorese

Zur Hochspannungselektrophorese wurden folgende Puffer verwendet:

1. Triäthylaminacetat-Puffer (Porath, 1955)

0,1 m; pH 9,6; 6° C; 45 min

2. Ammoniumformiat-Puffer (Hirs, 1952)

0,2 m; pH 3,7; 6° C; 60 min

3. Na-Borat-Puffer (Weigel, 1962)

0,05 m; pH 9,8; 6° C; 90 min.

Bei der Elektrophorese werden die zu untersuchenden Substanzen in wenig Puffer aufgenommen und auf das mit Puffer gleichmäßig befeuchtete Whatmanpapier Nr. 1 aufgetragen.

In der Tabelle 1 sind die R-Glucose-Werte der bei Acer pseudo-platanus auftretenden Inosite bei Elektrophorese im Na-Borat-Puffer wiedergegeben.

Tab. 1: R-Glucose-Werte von den bei Acer beschriebenen Inositen bei Elektrophorese im Na-Borat-Puffer (Laufzeit 90 min)

myo-Inosit	0,51
D-Bornesit	
(1-0-methyl-myo-Inosit)	0,11
L-Quebrachit	
(2-0-methyl-L-Inosit)	0,24
L-Inosit	0,65

2.4.5. Lokalisation von Verbindungen auf den Chromatogrammen

Radioaktive Verbindungen auf den Papierchromatogrammen bzw. Pherogrammen wurden durch Auflegen auf Agfa-Gevaert-Röntgenpapier sichtbar gemacht. Bei sehr geringen Aktivitäten wurde Agfa-Gevaert-Röntgenfilm Curix RP verwendet. Die Expositionszeit wurde so berechnet, daß etwa 1 % der Gesamtaktivität eine sichtbare Schwärzung des Photopapiers bzw. des Films ergab. (100 ipm sind nach 12 Tagen sichtbar).

Cyclite und Zucker wurden durch Besprühen mit alkalischem Silbernitrat (Trevelyan et al. 1951) bzw. mit Benzidin-Perjodat (Cinfonelli et al. 1954) sichtbar gemacht.

Aldosen und Ketosen wurden mit dem Reagenz nach Bailey (1962) unterschieden.

Bei Cochromatographien wurden die nicht radioaktiven Vergleichssubstanzen mit alkalischem Silbernitrat angefärbt.

2.4.6. Messung gelöster radioaktiver Verbindungen

Die Radioaktivitätsbestimmung gelöster radioaktiver Substanzen wurde im Szintillationszähler LS 100 der Firma Beckman Instruments Inc., Fullerton (California) durchgeführt.

Bei der Bestimmung der Gesamtaktivität von Extrakten wurden die Impulse aliquoter Mengen in einem Dioxan-Cocktail folgender Zusammensetzung gezählt:

5 g PP0 (= 2,5-Diphenyloxazol); 100 g Naphtalin in 1 l Dioxan.

Die Messung von Methanol-Äthanolamingemischen erfolgte in einem Toluol-Cocktail:

5 g PP0 in 1 l Toluol.

Bei beiden Scintillationszählungen wurden die Zählausbeuten bestimmt und die Meßwerte von ipm auf dpm umgerechnet.

2.4.7 Messung radioaktiver Verbindungen auf Chromatogrammen

Die Auswertung der Radioautogramme erfolgte durch Auszählen der entsprechenden Flecken auf den Papierchromatogrammen bzw. Pherogrammen mit einem großflächigen Methandurchflußzählrohr mit Endfenster der Firma Frieske und Hoepfner, Erlangen-Bruck. Eindimensionale Papierchromatogramme wurden gelegentlich im Chromatogramm-"scanner" ausgezählt.

Bei beiden Methoden wurden, wenn die Radioaktivität für eine hinreichend genaue Messung zu gering war, die Flecken ausgeschnitten und die Radioaktivität im Toluol-Cocktail im Scintillationszähler gemessen.

2.4.8 Messung von $^{14}\text{CO}_2$

Bei den Fütterungsversuchen, die in einem geschlossenen Luftraum stattfanden, wurde das entstehende CO_2 in 5%iger Kalilauge absorbiert. Da Laugen im Cocktailgemisch Chemolumineszenz erzeugen und damit bei der Scintillationszählung eventuell Radioaktivität vortäuschen können, wurde das absorbierte CO_2 nach der Methode von Gibbs et al. (1963) mit Phosphorsäure in Äthanolamin (2 ml) übergetrieben. Das Äthanolamin wurde nach dem Übertreiben mit 13 ml Methanol versetzt. Von diesem Gemisch gelangten 10 ml mit 10 ml Toluol-Cocktail zur Messung im Scintillationszähler.

Testversuche von Thanbichler (1973) zeigten, daß das Austreiben und die Reabsorption von CO_2 in Äthanolamin nach 1 Std. ohne Verlust erfolgt.

2. 5 Darstellung von ^{14}C -uniform markierten Verbindungen

Um Saccharose- $u\text{-}^{14}\text{C}$, myo-Inosit- $u\text{-}^{14}\text{C}$, D-Bornesit- $u\text{-}^{14}\text{C}$ und L-Bornesit- $u\text{-}^{14}\text{C}$ darzustellen, wurde die unter 2.2.1 beschriebene Apparatur verwendet.

Für die Gewinnung von Saccharose- $u\text{-}^{14}\text{C}$ ließ man junge Blätter von *Acer pseudo-platanus* eine Stunde photosynthetisch $^{14}\text{CO}_2$ assimilieren. Nach acht Stunden Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ hatten die Blätter von *Acer pseudo-platanus* ausreichend myo-Inosit- $u\text{-}^{14}\text{C}$ und D-Bornesit- $u\text{-}^{14}\text{C}$ gebildet.

Ebenfalls nach acht Stunden Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ wurde D-Bornesit- $u\text{-}^{14}\text{C}$ aus den Blättern von *Myosotis arvensis* (Plouvier 1958) und L-Bornesit- $u\text{-}^{14}\text{C}$ aus den Blättern von *Vinca minor* (Plouvier 1961) gewonnen.

Für die Darstellung von L-Quebrachit- $u\text{-}^{14}\text{C}$ wurde die unter 2.2.2 beschriebene Technik angewendet. Die Erfahrung aus mehreren Photosyntheseversuchen zeigte, daß L-Quebrachit- $u\text{-}^{14}\text{C}$ in Ahornblättern eine hohe Radioaktivität aufweist, wenn an die acht-stündige Photosyntheseperiode in $^{14}\text{CO}_2$ ein Tag in $^{12}\text{CO}_2$ angeschlossen wird.

L-Inosit- $u\text{-}^{14}\text{C}$ wurde durch Demethylierung von L-Quebrachit- $u\text{-}^{14}\text{C}$ mit Jodwasserstoffsäure erhalten (in Einschlußröhrchen 40 min bei 100°C).

Die radioaktiv entstandenen Inosite wurden aus den Aceton/Wasser Extrakt der einzelnen Blätter isoliert und chromatographisch unter Verwendung der Gemische 1, 2 und 3 gereinigt.

2.6 Quantitative Bestimmungen

2.6.1 Saccharose

Saccharase wurde mit β -Fructosidase (Invertase) der Firma Boehringer

ger gespalten. Die Glucose wurde dann enzymatisch nach der GOD-Methode (Boehringer) bei 436 nm bestimmt.

2.6.2 L-Quebrachit

Der Methyläther wurde zu L-Inosit demethyliert. Die quantitative Bestimmung des unsubstituierten Inosits erfolgte durch Perjodat-Oxydation nach Avigad (1969).

2.7 Verwendete Chemikalien und authentische Referenzsubstanzen

Ba¹⁴CO₃ (256 mC/g) stammte von den Farbwerken Hoechst. Die anderen Chemikalien wurden von den Firmen Boehringer, Merck, Roth und Schuchardt bezogen.

Proben verschiedener Inosite für chromatographische Vergleichszwecke wurden freundlicherweise von Prof. S. J. Angyal, Kensington, Prof. H. Kindl, Marburg und Prof. V. Plouvier, Paris zur Verfügung gestellt.

Authentischer L-Quebrachit wurde von der Uniroyl Plantation, Rockefeller Center, New York erhalten.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1. Biosynthese von L-Quebrachit

3.1.1. In Blättern von *Acer pseudo-platanus*

3.1.1.1. Vorkommen und bisherige Untersuchung über die Biosynthese von L-Quebrachit

L-Quebrachit wurde 1889 von Tanret aus der Quebrachorinde (= Rinde von *Aspidosperma quebracho-blanco*) gewonnen, wobei es dem Autor gelang, durch Demethylierung der Substanz die Beziehung zum optisch-aktiven Hexahydroxycyclohexan, dem L-chiro-Inosit nachzuweisen. Malmy und Bouvet isolierten 1942 L-Quebrachit in geringen Mengen (0,34 - 0,61 g/kg getrocknete Blätter) aus den Blättern von *Acer pseudo-platanus* L. und *Acer platanoides*. Plouvier der in sorgfältiger Arbeit die Verbreitung der Cyclite im Pflanzenreich untersuchte, konnte L-Quebrachit in weiteren 23 der insgesamt etwa 150 Arten der Aceraceae nachweisen. Die 23 Arten gehörten den Gattungen *Acer* und *Negundo* an. In den Gattungen *Acer* und *Negundo* (oft als Sektion zu *Acer* gerechnet) erwies sich nur eine untersuchte Art, nämlich *Acer carpinifolium*, die sich auch durch nicht gelappte Blätter von allen anderen Arten dieser Gattung unterscheidet, als negativ. Auch die beiden unter-

suchten Arten der dritten Gattung *Dipteronia* enthielten kein L-Quebrachit. Neben den *Aceraceae* fand Plouvier in weiteren 10 Familien der Angiospermen L-Quebrachit, wobei *Apocynaceae* und *Compositae* den Verbreitungsschwerpunkt darstellen. (Plouvier 1949, 1951, 1960, 1961, 1964, 1965.)

Untersuchungen über die Biosynthese von L-Quebrachit liegen bisher nur von Löffmann-Ostenhof et al. (1964) vor, die bei *Artemisia vulgaris* einen Einbau von L-chiro-Inosit in L-Quebrachit fanden. Die Autoren folgerten daraus, daß myo-Inosit zunächst epimerisiert und dann in Position 2 methyliert wird (Abb. 3).

Ein weiterer denkbarer Biosyntheseweg wäre, daß myo-Inosit zunächst methyliert und das entstehende Zwischenprodukt dann epimerisiert wird. Diese Möglichkeit, bei der als Zwischenprodukt D-Bornesit (1-O-methyl-myo-Inosit) auftreten müßte, konnte bisher in keiner Pflanze nachgewiesen werden.

3.1.1.2 Identifizierung von D-Bornesit

Nach Photosynthesezeiten zwischen 40 min. und 8 Std. in $^{14}\text{CO}_2$ angereicherter Luft zeigten sämtliche Chromatogramme des Blattextraktes von *Acer pseudo-platanus* einen unbekannten radioaktiven Fleck. Seine Lage auf den Radioautogrammen ließ vermuten, daß es sich dabei um einen Cyclit handeln könnte. Die dazugehörigen Papierchromatogramme jedoch zeigten weder nach Behandlung mit alk. Silbernitrat noch mit dem Reagenz Bailey (siehe Material und Methoden) eine positive Reaktion. Die unbekannte Verbindung lag demnach in einer außerordentlich geringen Konzentration im Blatt vor, oder sie war kein Cyclit bzw. keine Polyhydroxyverbindung.

Alle weiteren Versuche wurden mit der radioaktiv markierten Substanz durchgeführt. Bei Elektrophorese in Triäthylamin-Acetat-

Puffer pH = 9,6 sowie in Ammoniumformiat-Puffer pH = 3,7 erwies sie sich als elektrisch ungeladen. Saure Hydrolyse mit in Salzsäure ergab keine Spaltprodukte, dagegen erhielten wir nach dem Erhitzen mit Jodwasserstoffsäure nahezu quantitativ myo-Inosit. Demnach mußte die Verbindung eine Äthergruppierung besitzen.

Ein Vergleich mit den in der Literatur angegebenen R_F -Werten bekannter O-Methylderivate von myo-Inosit legte die Vermutung nahe, daß es sich bei der fraglichen Verbindung um Bornesit handelte (Kindl und Hoffmann-Ostenhof 1966). Cochromatographie und Coelektrophorese mit authentischem D-Bornesit bestätigten diese Annahme. Um auch die Konfiguration des Bornesits aus Ahornblättern aufzuklären, wäre eine Isolierung notwendig gewesen. Da jedoch aufgrund der geringen Konzentration in den Blättern eine Anreicherung praktisch unmöglich war, wurde ein indirekter Nachweis gewählt.

Authentischer D-Bornesit von *Myosotis arvensis* (Plouvier 1958) und authentischer L-Bornesit von *Vinca minor* (Plouvier 1961) wurden durch Photosynthese von Blättern in $^{14}\text{CO}_2$ uniform markiert erhalten. Diese beiden Methylinosite und der Bornesit aus *Acer* wurden in der im Abschnitt 3.1.1.4 beschriebenen Weise an Ahornblätter verfüttert. Authentischer D-Bornesit und "Acer-Bornesit" wurden dabei nahezu in gleichem Maße in L-Quebrachit und eine unbekannte Verbindung X umgewandelt, während L-Bornesit unverändert blieb. Daraus ergibt sich, daß der Bornesit aus *Acer* die D-Konfiguration besitzt. Dieser Methylinosit war bisher für *Acer* nicht beschrieben.

3.1.1.3 Bildung und Umsatz der Inosite

3.1.1.3.1 Bildungsgeschwindigkeit im Frühjahr

Um einen Eindruck zu bekommen, wie rasch die einzelnen Kohlenhydrate in Blättern von *Acer pseudo-platanus* gebildet werden, wur-

den die Kinetik der ^{14}C -Markierung bei Photosynthese in einer Atmosphäre von Luft + 0,1 % $^{14}\text{CO}_2$ untersucht. Diese Versuche wurden nicht am natürlichen Standort sondern im Labor mit abgeschnittenen Blättern vorgenommen. In Abständen von 2 min. bis 4 Std. wurden Blattstücke aus dem Assimilationsgefäß entnommen und extrahiert. Die Verteilung der Aktivität auf die einzelnen Verbindungen wurde papierchromatographisch untersucht.

Die Abb. 4 und 5 geben zwei typische Radioautogramme eines im Frühjahr mit jungen Blättern von *Acer pseudo-platanus* durchgeführten Versuchs wieder.

Die zweidimensionale Papierchromatographie erfaßt auch das Spektrum der sekundären Pflanzenstoffe; im Rahmen dieser Arbeit interessieren von den zahlreich markierten Verbindungen jedoch nur die Inosite. Die Tabelle 2 enthält die Zahlen für den prozentualen Anteil dieser Verbindungen an der Radioaktivität der löslichen Fraktion. Als Vergleich ist Saccharose mit angegeben. Sie hat erwartungsgemäß in allen Fällen den höchsten Anteil an der Fixierung von $^{14}\text{CO}_2$, der beim 40 min. Wert über 50 % ansteigt; jedoch nach 4 Std. bereits auf 28 % abfällt.

Tab. 2: Verteilung der Radioaktivität* auf einzelne Verbindungen in jungen Blättern von *Acer pseudo-platanus* am 19. Mai 1970 nach verschiedenen Photosynthesezeiten in $^{14}\text{CO}_2$

Zeit	Saccharose	myo-Inosit	D-Bornesit	L-Quebrachit
2'	25,5	0,0	0,0	0,0
5'	27,5	0,4	0,0	0,0
10'	36,4	0,5	0,0	0,0
40'	50,9	0,6	0,3	0,0
4 ^h	28,2	0,8	0,6	0,0

*Prozent der Aktivität der löslichen Fraktion

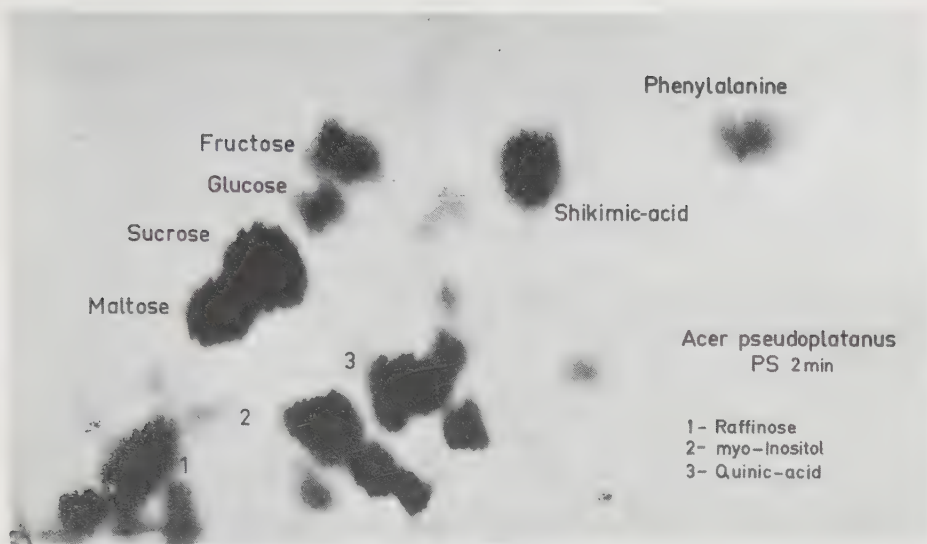


Abb. 4: Autoradiogramm eines Blattextraktes von *Acer pseudo-platanus* nach 2 min P.S. in $^{14}\text{C}\text{O}_2$ am 19. 5. 1970

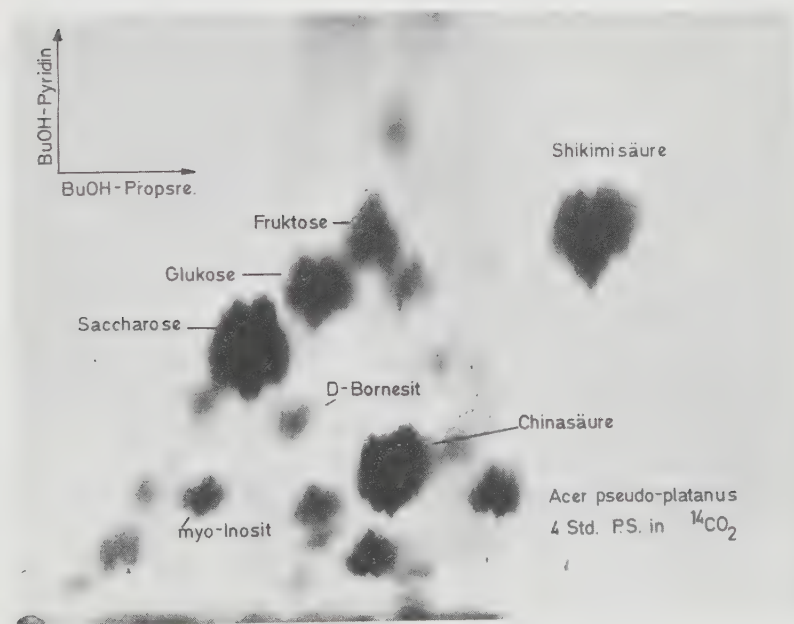


Abb. 5: Wie Abb. 4, jedoch 4 Std. P.S. in $^{14}\text{C}\text{O}_2$

Im Gegensatz dazu findet sich nur ein geringer Teil der Aktivität in myo-Inosit, der im Untersuchungszeitraum jedoch stetig zunimmt. Von den beiden Methylinositen erreicht D-Bornesit erst nach 40 min meßbare Radioaktivität, während L-Quebrachit innerhalb der Versuchsdauer nicht radioaktiv markiert wurde.

3.1.1.3.2 Verhalten über den Sommer

Um eine weitere Aussage über Bildung und Umsatz der Inosite während der Vegetationsperiode machen zu können, wurden Blätter von *Acer pseudo-platanus* am Standort am 19. 5. 70 durch Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ radioaktiv markiert und anschließend wieder natürlichen Bedingungen ausgesetzt. Die $^{14}\text{CO}_2$ Assimilation erfolgte bei klarem Wetter in der Zeit von 10 Uhr bis 18 Uhr. Die höchste Beleuchtungsstärke lag bei 100 000 Lux, die CO_2 -Konzentration betrug 0,45 %, die Gesamtmenge an Aktivität 1 mC ^{14}C . In Abständen von Tagen, bzw. von Wochen wurden vier Monate lang zufallsmäßig Blattstücke abgeschnitten und auf die Verteilung der Radioaktivität untersucht. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 3 zusammengefaßt. Die Abb. 6 und 7 zeigen charakteristische Autoradiogramme von diesem Versuch.

Nach 8 Std. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ sind myo-Inosit und die beiden Methylderivate D-Bornesit und L-Quebrachit radioaktiv markiert. D-Bornesit, der zu dieser Zeit seine höchste Radioaktivität aufweist, wird nach dem Übergang zu Normalbedingungen rasch herausverdünnt. Ähnlich verhält sich myo-Inosit. Dagegen steigt die Markierung in L-Quebrachit zunächst weiter an. Betrachtet man die absoluten Zahlen der Markierung von L-Quebrachit, so ist nach 10 Tagen bereits ein deutliches Absinken feststellbar und nach 120 Tagen sind nur noch 3 % von den maximalen $66,2 \times 10^6$ Impulsen am sechsten Tag vorhanden. Das deutet darauf hin, daß L-Quebrachit entweder abgeleitet oder abgebaut wird.

L-Inosit, der bei *Artemisia* als Zwischenprodukt bei der Biosynthese von L-Quebrachit auftritt, konnte bei den Versuchen mit

Tab. 3: Verteilung der Radioaktivität auf Saccharose und die Inosite in Blättern von Acer pseudo-platanus während des Dauerversuches im Sommer 1970.

	19.5.	25.5.	29.5.	9.6.	19.6.	19.7.	19.8.	19.9.
Lösliches % dpm*	100 1 274,1	100 557,3	100 290,7	100 444,0	100 264,7	100 195,2	100 216,9	100 255,8
Saccharose % dpm*	4,7 59,6	1,2 6,6	0,9 2,6	0,8 0,0	0,0 0,0	0,0 0,0	0,0 0,0	0,0 0,0
myo-Inosit % dpm*	1,6 20,4	1,9 10,5	1,1 3,1	0,3 0,0	0,0 0,0	0,0 0,0	0,0 0,0	0,0 0,0
D-Bornesit % dpm*	2,9 36,9	0,0 0,0	0,0 0,0	0,0 0,0	0,0 0,0	0,0 0,0	0,0 0,0	0,0 0,0
L-Quebrachit % dpm*	1,8 22,9	11,9 66,2	11,0 31,9	10,2 44,8	7,8 20,5	3,7 7,0	2,0 4,3	0,9 2,3

* Aktivität in 10^6 dpm/g Fgw.

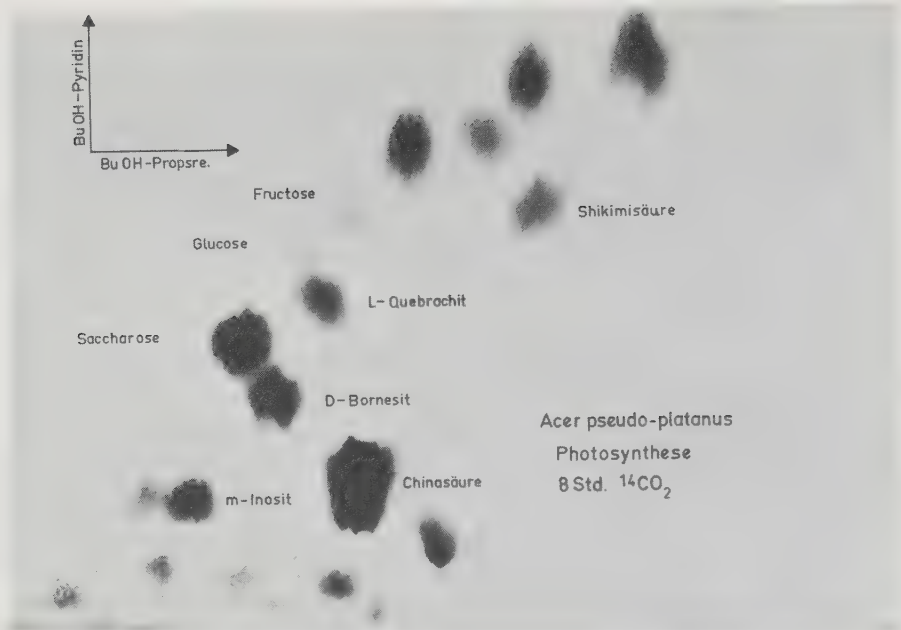


Abb. 6: Autoradiogramm des Blattextraktes von *Acer pseudo-platanus* nach 8 Std. P.S. in $^{14}\text{C}\text{O}_2$ am 19.5.1970



Abb. 7: wie 6, jedoch nach 5 Tagen in $^{12}\text{C}\text{O}_2$

Acer nicht nachgewiesen werden. Das ließ vermuten, daß der Syntheseweg bei Acer in vivo über D-Bornesit verläuft.

3.1.1.4 Applikation von verschiedenen Inositen an Blätter von Acer pseudo-platanus

Um weitere Anhaltspunkte für die Bildung von L-Quebrachit zu erhalten, wurden verschiedene, mögliche Vorläufer an Acerblätter verfüttert. Die abgeschnittenen Blätter nahmen dabei durch ihre Stiele die verschiedenen Vorläufer auf. Die Ergebnisse sind in der Tab. 4 zusammengestellt. Die Abb. 8 und 9 zeigen die dazugehörigen ein-dimensionalen Radioautogramme.

Wenn myo-Inosit- $u-^{14}C$ appliziert wurde, so konnte radioaktiver D-Bornesit, L-Quebrachit und eine unbekannte Verbindung X isoliert werden. Wiederum tritt D-Bornesit als Zwischenprodukt auf, während sich L-Quebrachit und die Verbindung X wie Endprodukte verhalten. Radioaktiver L-Inosit konnte nicht gefunden werden. Authentischer D-Bornesit- $u-^{14}C$ von Myosotis und D-Bornesit- $u-^{14}C$ von Acer wurden in nahezu gleichem Maße in L-Quebrachit umgewandelt. Nach 44 Std. Infusionsdauer beträgt in beiden Fällen der Einbau in isolierten L-Quebrachit nahezu 80 % des applizierten Vorläufers. Auch trat wiederum die Verbindung X mit entsprechend niedrigerer Radioaktivität auf. Im Gegensatz dazu wurde authentischer L-Bornesit- $u-^{14}C$ von Vinca minor nach der Applikation völlig unverändert im Blatt wiedergefunden.

L-Inosit- $u-^{14}C$ wird von Acerblättern nur schwach, aber in signifikanten Mengen zu L-Quebrachit methyliert. Nach 44 Std. konnten immerhin 4,7 % in L-Quebrachit gefunden werden. Die Verbindung X wurde bei Applikation von L-Inosit nicht erhalten.

Diese Daten zeigen, daß in Blättern von Acer pseudo-platanus D-Bornesit tatsächlich das Zwischenprodukt bei der L-Quebrachit-Synthese ist. L-Inosit wird zwar ebenfalls mit sehr geringer Rate zu L-Quebrachit umgewandelt, aber die Tatsache, daß er weder bei der Photosynthese in $^{14}CO_2$ noch bei Zugabe von myo-Inosit- $u-^{14}C$ radioaktiv

Tab. 4: Verteilung der Radioaktivität auf die einzelnen Cyclite in Acer pseudo-platanus nach Applikation von myo-Inosit, D-Bornesit, L-Bornesit und L-Inosit

Applizierte Verbindung	Isolierte Verbindung	Radioakt. Einbau			
		21 Std.		44 Std.	
		dpm	%*	dpm	%*
myo-Inosit-u- ¹⁴ C	D-Bornesit	6480	8,7	1350	1,8
	L-Quebrachit	6910	9,3	44840	61,0
	Verbindung X	1350	1,8	7700	10,8
Bornesit-u- ¹⁴ C	L-Quebrachit	28650	19,1	115114	76,1
	Verbindung X	1380	0,7	10280	5,2
von Acer pseudo-platanus	L-Quebrachit	27600	22,8	95170	79,0
	Verbindung X	6860	5,7	8220	6,8
D-Bornesit-u- ¹⁴ C	L-Quebrachit	0	0	0	0
	Verbindung X	0	0	0	0
von Myosotis vulgaris	L-Quebrachit	1270	0,7	7920	4,7
	Verbindung X	0	0	0	0
L-Bornesit-u- ¹⁴ C	L-Quebrachit				
	Verbindung X				
von Vinca minor	L-Quebrachit				
	Verbindung X				
L-Inosit-u- ¹⁴ C	L-Quebrachit				
	Verbindung X				

* % des applizierten Vorläufers

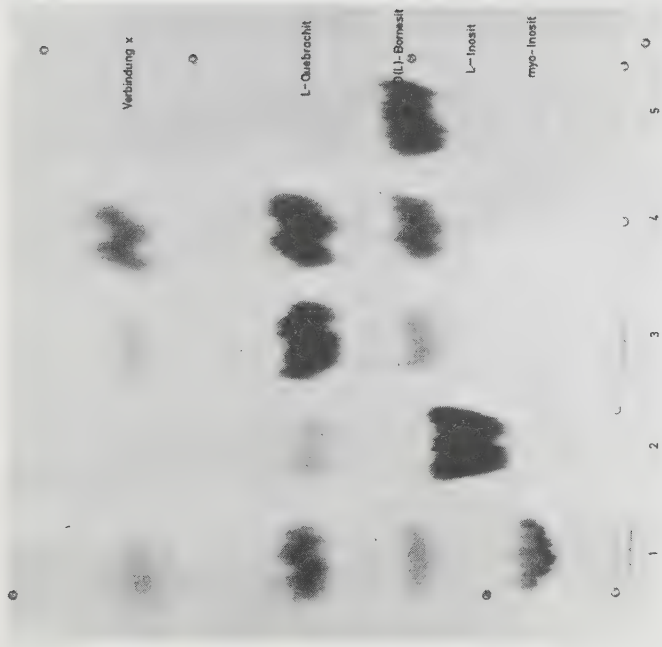


Abb. 8: Autoradiogramme der Blattextrakte von *Acer pseudo-platanus* nach Applikation (21 Std.) von myo-Inosit- ^{14}C (1), L-Inosit- ^{14}C (2), D-Bornesit- ^{14}C von *Acer* (3), D-Bornesit- ^{14}C von *Myosotis* (4) und L-Bornesit- ^{14}C von *Vinca* (5).

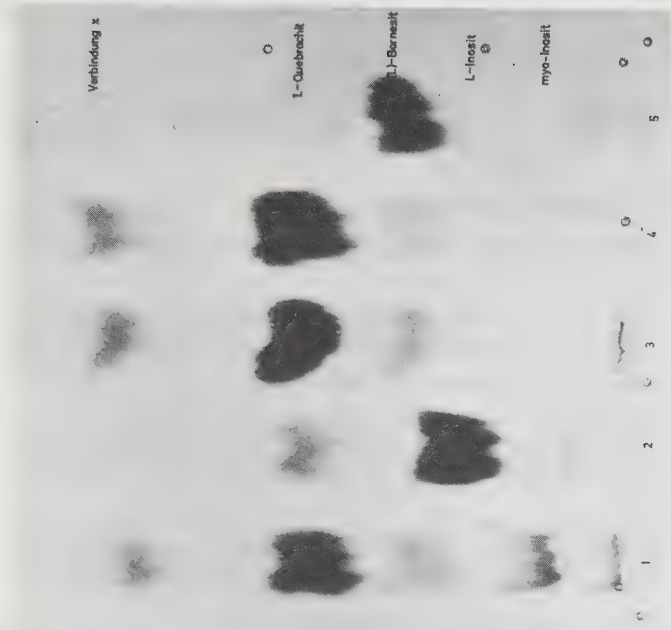


Abb. 9: wie Abb. 8, jedoch 44 Std. Applikationsdauer.

markiert auftritt, läßt ihn als Zwischenprodukt bei *Acer pseudo-platanus* ausscheiden.

3.1.2 In Blätter von *Artemisia vulgaris*

Die 1964 von Hoffmann-Ostenhof et al. erzielten Resultate bei Untersuchungen zur L-Quebrachit-Synthese in Blättern von *Artemisia vulgaris* ließen auf einen Einbau von L-Inosit schließen. Die Autoren fanden im Frühjahr bei einer Infusionsdauer von einer Woche 12,4 %, im Herbst bei einer Infusionsdauer von zwei Wochen jedoch nur 7,7 % des applizierten L-Inosits in L-Quebrachit wieder. Diese Werte lagen viel niedriger als die in unseren Versuchen mit *Acer pseudo-platanus* erhaltenen Einbauraten von D-Bornesit in L-Quebrachit bei kürzerer Applikationsdauer (siehe Tab. 4). D-Bornesit als mögliches Zwischenprodukt war von den Autoren überhaupt nicht verfüttert worden. Um diese Resultate zu prüfen und auszubauen, wurden *Artemisia*-Blätter ebenfalls in unsere Versuche miteinbezogen.

3.1.2.1 Bildung und Umsatz der Inosite

Im Gegensatz zum Dauerversuch mit *Acer pseudo-platanus* am natürlichen Standort wurde der Photosyntheseversuch mit *Artemisia* am 20. 7. 71 im Labor mit abgeschnittenen beblätterten Zweigen ausgeführt. Nach fünf Stunden Photosynthese in Luft mit 0,1 % $^{14}\text{CO}_2$ wurde der Zweig aus der Assimilationskuvette genommen. Unmittelbar nach der Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ sowie nach einem bzw. sechs Tagen in $^{12}\text{CO}_2$ wurden Blattsammelproben entnommen und papierchromatographisch die Verteilung der Radioaktivitäten zwischen den einzelnen Cycliten bestimmt. (Tab. 5 und Abb. 10).

Deutlich läßt sich daraus die Synthesesequenz der Inosite in *Artemisia vulgaris* ablesen. Nach fünf Stunden Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ ist nur myo-Inosit als Ausgangsprodukt radioaktiv markiert. Nach einem Tag unter Normalbedingungen treten L-Inosit und L-Quebrachit als Endprodukt radioaktiv markiert auf. Während L-Inosit nach

Tab. 5: Verteilung der Radioaktivität* auf einzelne Verbindungen in Blättern von *Artemisia vulgaris* während des Dauerversuches im Sommer 1971

		20. 7.	21. 7.	26. 7.
Lösliches	% dpm	100	100	100
Saccharose	% dpm	684,1	410,2	305,1
myo-Inosit	% dpm	40,9	1,3	1,1
		279,7	5,3	3,4
L-Inosit	% dpm	1,2	1,0	0,4
		8,2	4,1	1,2
	% dpm	0,0	0,2	0,3
		0,0	0,8	0,9
L-Quebrachit	% dpm	0,0	0,7	5,7
		0,0	2,9	17,3

* Aktivität in 10^6 dpm/g Fgw.

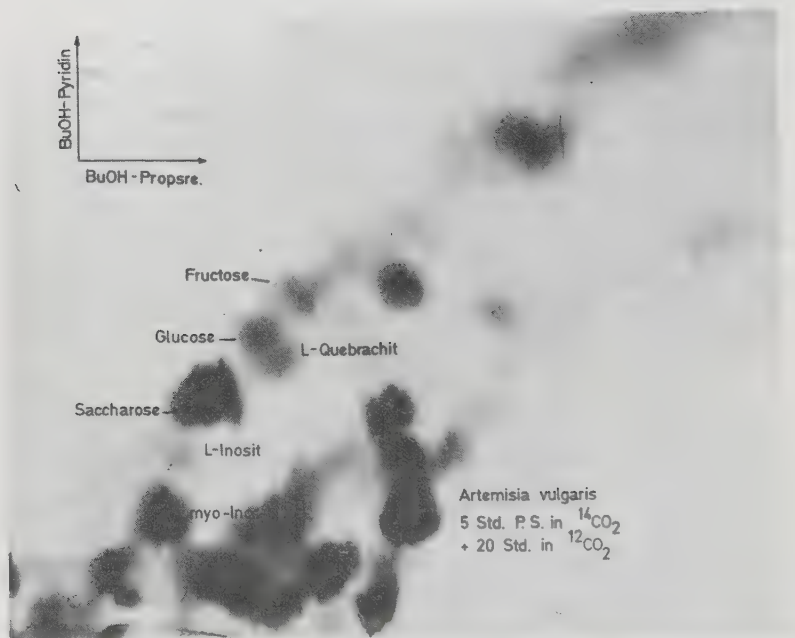


Abb. 10: Autoradiogramm des Blattextraktes von *Artemisia vulgaris* nach 5 Std. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ und 20 Std. in $^{12}\text{CO}_2$.

weiteren sechs Tagen kaum eine Veränderung in den absoluten Werten der Markierung aufweist, ist die Markierung in L-Quebrachit nach sechs Tagen weiter angestiegen. D-Bornesit, der bei Acer als Zwischenprodukt bei der Bildung von L-Quebrachit gefunden wurde, trat nicht auf. Bei Artemisia scheint somit, entsprechend dem Befund von Scholda et al. (1964) im Gegensatz zu Acer die Epimerisierung von myo-Inosit der Methylierung voranzugehen.

3.1.2.2 Applikation von verschiedenen Inositen an Blätter von Artemisia vulgaris

Sehr gut unterstützt wurden die bei dem Dauerversuch mit Artemisia vulgaris erhaltenen Ergebnisse durch Fütterungsexperimente (Tab. 6 und Abb. 11 und 12).

Tab. 6: Verteilung der Aktivität auf den isolierten L-Inosit und L-Quebrachit in Artemisia vulgaris nach Applikation von myo-Inosit, L-Inosit und D-Bornesit.

Applizierte Verbindung	Isolierte Verbindung	Radioaktiver Einbau			
		16 Std.		60 Std.	
		dpm	%*	dpm	%
myo-Inosit-u- ¹⁴ C	L-Inosit	1210	3,0	1720	4,8
	L-Quebrachit	650	1,6	2460	6,9
L-Inosit-u- ¹⁴ C	L-Quebrachit	6780	43,0	12050	57,2
D-Bornesit-u- ¹⁴ C	L-Quebrachit	0	0	0	0

* % des applizierten Vorläufers

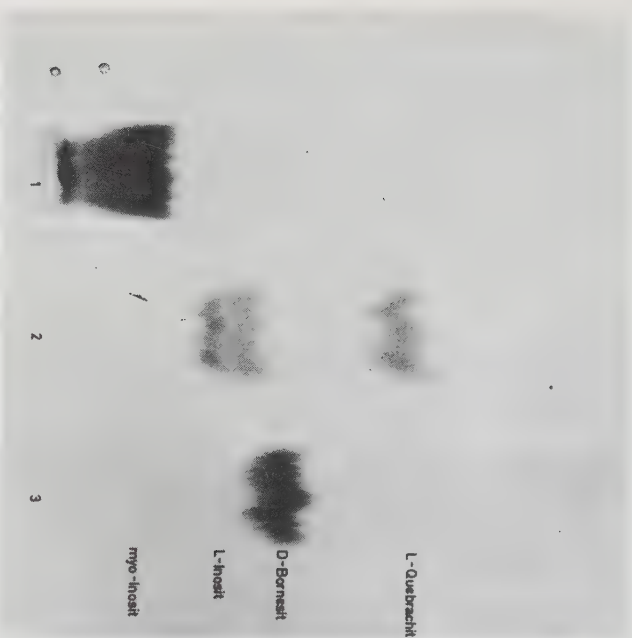


Abb. 11: Autoradiogramm der Blattextrakte von *Artemisia vulgaris* nach Applikation (16 Std.) von myo-Inosit-u-¹⁴C (1), L-Inosit-u-¹⁴C (2) und D-Bornesit-u-¹⁴C (3).

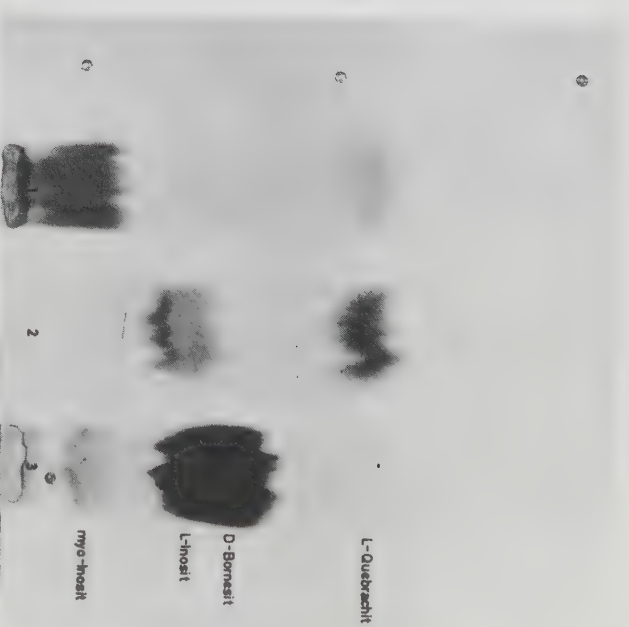


Abb. 12: wie Abb. 11, jedoch 60 Std. Applikationsdauer.

In der gleichen Technik wie bei *Acer* wurden hier myo-Inosit-u-¹⁴C, L-Inosit-u-¹⁴C und D-Bornesit-u-¹⁴C an Blätter von *Artemisia vulgaris* appliziert.

Bei Verfütterung von myo-Inosit-u-¹⁴C tritt erst markierter L-Inosit und dann markierter L-Quebrachit auf. *Artemisia* Blätter vermögen applizierten L-Inosit-u-¹⁴C innerhalb 60 Stunden zu 57 % zu L-Quebrachit zu methylieren, während angebotener D-Bornesit-u-¹⁴C im Gegensatz zu *Acer* überhaupt nicht umgesetzt wird. Bei *Artemisia vulgaris* scheint somit die L-Quebrachit-Synthese ausschließlich über L-Inosit zu verlaufen.

Der nahezu fünffach bessere Isotopeneinbau (57,8 %) von L-Inosit-u-¹⁴C in L-Quebrachit, wie er sich in unseren Versuchen mit *Artemisia* zeigte, kann, vorausgesetzt daß die Fähigkeit zur Methylierung von L-Inosit bei beiden Pflanzen die gleiche war, dadurch erklärt werden, daß die Absolutmenge unseres verfütterten L-Inosits-u-¹⁴C wesentlich geringer war.

Die bei *Acer* auftretende Verbindung X konnte bei *Artemisia vulgaris* nicht entdeckt werden.

3.1.3 Diskussion der Ergebnisse

Die aus Verdrängungsexperimenten in $^{14}\text{CO}_2 \rightarrow ^{12}\text{CO}_2$ und durch Verfütterung radioaktiv markierter Vorläufer erhaltenen Ergebnisse haben gezeigt, daß es ausgehend von myo-Inosit zwei verschiedene Biosynthesewege für L-Quebrachit gibt (Abb. 13).

Während in den Blättern von *Artemisia vulgaris* die Epimerisierung von myo-Inosit der Methylierung von L-Inosit zu L-Quebrachit vorangeht, erfolgt in den Blättern von *Acer pseudo-platanus* zunächst die Methylierung von myo-Inosit zu D-Bornesit, der dann seinerseits zu L-Quebrachit epimerisiert wird.

Inwieweit diese Befunde bei *Artemisia vulgaris* und *Acer pseudo-platanus* auf die jeweiligen Familien übertragen werden können, kann nur teilweise beantwortet werden.

Die weite Verbreitung von L-Inosit innerhalb der Compositae ist bekannt (Kindl und Hoffmann-Ostenhof, 1966). Dagegen scheint L-Quebrachit auf die Gattung *Artemisia* beschränkt zu sein, da selbst die verwandtschaftlich nahestehenden Gattungen des gleichen Tribus (Anthemideae) kein L-Quebrachit aufweisen. Innerhalb der Gattung *Artemisia* konnte L-Quebrachit aus 10 Arten isoliert werden. Man kann annehmen, daß bei ihnen die Synthese auch über L-Inosit verläuft. Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß *Artemisia dracuncululus* L-Pinit enthält; seine Bildung verläuft ebenfalls über L-Inosit (Scholda et al., 1964).

Nach den erwähnten Arbeiten von Plouvier (siehe auch 3.1.1.1) ist es wahrscheinlich, daß die Aceraceae mit ganz wenigen Ausnahmen größere oder kleinere Mengen L-Quebrachit akkumulieren, während über den Gehalt an L-Inosit bisher keine Angaben vorliegen. Bei Photosyntheseversuchen mit *Acer platanoides* konnte, wie bei den Versuchen mit *Acer pseudo-platanus*, auf den Autoradiogrammen neben myo-Inosit nur D-Bornesit und L-Quebrachit gefunden werden.

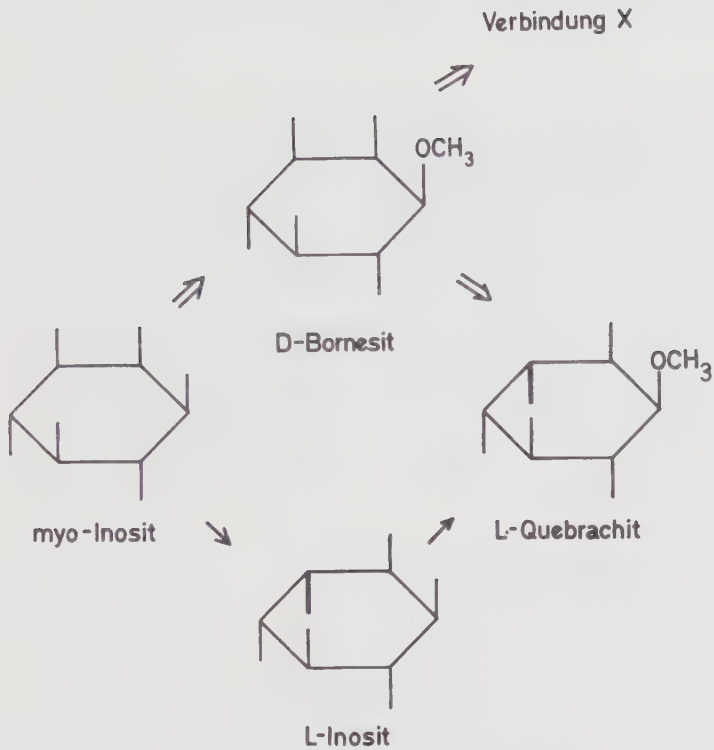


Abb. 13: Die biogenetischen Beziehungen der Inosite in *Acer pseudo-platanus* $\Rightarrow$ und *Artemisia vulgaris* $\rightarrow$

Man könnte dies als Hinweis dafür nehmen, daß die Bildung von L-Quebrachit über D-Bornesit bei den Aceraceae allgemein verbreitet ist.

Vom vergleichenden biochemischen taxonomischen Standpunkt aus wäre es interessant zu wissen, welche der beiden Synthesewege für L-Quebrachit in den taxonomischen Gruppen realisiert ist. Der bei *Acer* gefundene Bildungsmechanismus eines Methyläthers der L-Reihe ist bisher einmalig und insofern unerwartet, als Kindl und Hoffmann-Ostenhof (1966) in ihrem zusammenfassenden Bericht über Cyclite die Ansicht vertraten, daß bei der Bildung der Cyclite der L-Reihe die Epimerisierung allgemein direkt an myo-Inosit oder zumindest vor einer Methylierung erfolgt, während bei den Cycliten der D-Reihe die Methylierung vor der Epimerisierung erforderlich ist. Dies zeigten, nach Meinung der Autoren, zum einen die Bildung von L-Quebrachit in *Artemisia* bzw. von L-Pinit in *Artemisia dracunculus* (1964) über L-Inosit und zum anderen die Entstehung von D-Pinit in *Trifolium incarnatum* über Sequoyit (5-O-Methyl-myo-Inosit) und die Bildung von D-Inosit, die bei höheren Pflanzen ausschließlich durch Demethylierung aus D-Pinit erfolgt (Scholda et al. 1964). Ein weiteres Beispiel fanden Dittrich und Kandler (1972), die zeigen konnten, daß D-1-O-Methyl-muco-Inosit (siehe Abb. 3) durch Epimerisierung von D-Pinit gebildet wird. Auch hier tritt D-Inosit anscheinend nur als Abbauprodukt auf. Die L-Quebrachit-Synthese bei *Acer* widerspricht offenbar dieser Regel.

Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, daß Blätter von *Acer pseudo-platanus* die Fähigkeit besitzen, in geringem Umfang angebotenen L-Inosit zu methylieren, jedoch offensichtlich myo-Inosit nicht zu L-Inosit epimerisieren können, da L-Inosit weder bei der Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ noch bei Applikation von myo-Inosit gefunden wurde, obwohl eine rege L-Quebrachit-Synthese stattfand. Dies könnte dahingehend interpretiert werden, daß die Methylierung von L-Inosit in *Acer* nur ein Relikt darstellt, das nur "sichtbar" wird,

wenn man L-Inosit zuführt. Die L-Quebrachit-Bildung aus L-Inosit könnte aber auch durch eine, in der Zelle vorhandene, ungenügend spezifische Methyltransferase erklärt werden.

Während es sich bei der Methylierung einer Hydroxylgruppe um eine in der Natur sehr häufige und gut bekannt Umwandlung handelt, ist die Epimerisierung von D-Bornesit zu L-Quebrachit ein Reaktionstyp, für den es nur wenig gut untersuchte Beispiele gibt.

Nachdem Posternak et al. (1963) zeigen konnten, daß in der Ratte bei der Epimerisierung von myo-Inosit zu Scyllit eine Art Gleichgewicht besteht, bei dem myo-scyлло-Inosose als Zwischenprodukt fungiert, gelang es Scholda et al. (1964) auch in einer höheren Pflanze, nämlich in *Calycanthus occidentalis*, diese Inosose als Vermittler zwischen den beiden genannten Inositen zu bestätigen.

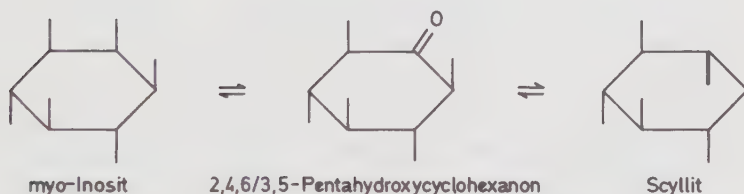


Abb. 14: Biogenetische Beziehungen zwischen myo-Inosit und Scyllit.

Die selben Autoren (1964) wiesen ebenso bei der Umwandlung von Sequoyit zu D-Pinit (siehe Abb. 1) in *Trifolium incarnatum* eine Ketose als Zwischenstufe nach. Ruis et al. (1969) konnten die beiden dafür verantwortlichen Oxydoreductasen isolieren und etwa 100-fach anreichern. Da beide Schritte verschiedene Cofaktoren benötigen, konnte der Übergang von Sequoyit zu D-Pinit im enzymatischen Ansatz gut demonstriert werden.

Ein ähnliches Intermediärprodukt könnte beim Übergang von D-Bornesit zu L-Quebrachit gefordert werden (Abb. 15).

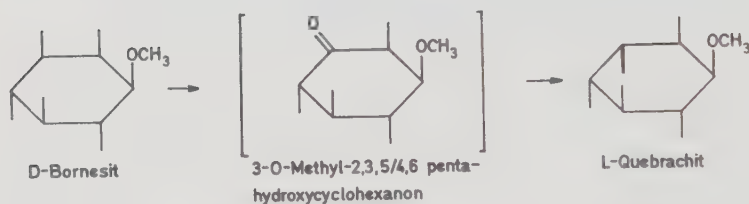


Abb. 15: Mögliche biogenetische Beziehung zwischen D-Bornesit und L-Quebrachit in *Acer*

Abschließend sei noch kurz auf die bei Verfütterung von myo-Inosit und D-Bornesit an Blätter von *Acer pseudo-platanus* auftretende Verbindung X eingegangen. Sie stellt wahrscheinlich ein D-Bornesit-Abkömmling dar. Dafür spricht zum einen, daß man bei Behandlung der

radioaktiv markierten Verbindung mit Jodwasserstoffsäure nur D-Bornesit und myo-Inosit radioaktiv markiert erhält und zum anderen daß bei einer Verfütterung von L-Quebrachit-u-¹⁴C an Acer-Blätter auch über mehrere Tage diese Verbindung nicht auftritt. Überprüft man die Literatur auf Inosit-Verbindungen, die für Verbindung X denkbar sein könnten, so ist insbesondere auf ein kürzlich von Plouvier (1970) aus 7 Campanula-Arten isoliertes myo-Inosit-Acetat zu verweisen.

Eine Strukturaufklärung der Verbindung X wäre notwendig, um sie zumindest in ihrer Rolle als Nebenprodukt bei der Bildung von L-Quebrachit in *Acer pseudo-platanus* zu verstehen.

3.2 Physiologie von L-Quebrachit

3.2.1 Abhängigkeit des Gehalts an L-Quebrachit von der Tages- bzw. Jahreszeit

Für die Bestimmung von L-Quebrachit im Blatt, in der Rinde und im Holz der Äste bzw. des Stammes von *Acer pseudo-platanus* diente ein etwa 20-jähriger Baum im Botanischen Garten München-Nymphenburg. Die Äste, die zur Untersuchung gelangten, waren 4-5jährig. Die Rinde und Teile vom Kambium der Äste bzw. des Stammes wurden durch Abschälen erhalten. Das Holz des Stammes wurde mit Hilfe eines Spiralbohrers (10 mm) in etwa 20 - 30 cm Höhe über dem Boden entnommen. Im Winter und Frühjahr wurde auch der dabei sich innerhalb einer Minute im Bohrloch ansammelnde Blutungssaft mit einer Pipette aufgesogen.

Die Tabelle 7 gibt einen Überblick über den Gehalt an L-Quebrachit in den verschiedenen Pflanzenmaterialien. Die Werte für Saccharose wurden, wie auch in den folgenden quantitativen Untersuchungen, zum Vergleich mit aufgenommen.

Tab. 7: Gehalt von Saccharose und L-Quebrachit in Pflanzenmaterialien von *Ader pseudo-platanus*. (Angaben in mg/g Fgw. bzw. * mg/ml)

Pflanzenmaterial	Entnahmetag	Saccharose	L-Quebrachit
Blatt	7. Juni 72	7,3	12,9
Ast/Holz	17. März 72	11,9	2,4
Ast/Rinde		14,4	6,8
Stamm/Holz	17. März 72	11,2	1,5
Stamm/Rinde		16,0	5,9
Blutungssaft *	17. März 72	24,8	1,4

Der höchste Gehalt an L-Quebrachit findet sich in den Blättern; mit 1,29 % des Frischgewichtes übertrifft er mengenmäßig sogar die Saccharose. Aber auch die anderen Gewebe enthalten L-Quebrachit als wesentlichen Inhaltsstoff. So erreicht er im Holz 10 - 20 % und in der Rinde 30 - 47 % des Saccharosegehalts. Der im Blutungs-saft gefundene Wert erscheint recht klein; dennoch ist L-Quebrachit die zweitstärkste Kohlenhydratfraktion nach der Saccharose, deren hohe Konzentration typisch für den Blutungs-saft des Ahorns zu sein scheint (Ziegler 1956).

Das reichliche Vorkommen von L-Quebrachit auch im Sproß läßt vermuten, daß er einen aus dem Blatt abgeleiteten Reservestoff darstellt. Es ist daher zu erwarten, daß L-Quebrachit im Blatt Tages-schwankungen und im Stamm Jahresschwankungen aufweist. Dies wurde in folgenden Untersuchungen überprüft.

4.1.1 Im Blatt

Die Veränderungen von L-Quebrachit im Blatt wurden am 7./8. Juni, 20./21. Juli und am 27./28. September 1972 verfolgt. An allen Tagen herrschte wolkenloses Wetter. Bei den vier Entnahmen, angefangen 12 Uhr mittags bis zum Sonnenaufgang des nächsten Tages, wurden jeweils drei etwa gleich große Blätter - das Frischgewicht der Blätter ist der Tabelle 8 zu entnehmen - von verschiedenen Seiten des Baumes abgeschnitten und auf den Gehalt an L-Quebrachit untersucht. In der Abb. 16 findet sich die graphische Darstellung der Ergebnisse.

L-Quebrachit wies an allen drei Tagen um 16 Uhr den höchsten Gehalt auf. Der niedrigste Wert wurde jeweils bei Sonnenaufgang festgestellt, wobei im Juli die Abnahme über Nacht 50 % und im Juni bzw. September 25 % betrug. Um 12 Uhr Mittag war dann der Pool an L-Quebrachit im Blatt schon nahezu wieder aufgefüllt.

Tab. 8: Fgw. in g von jeweils drei Blättern zu verschiedenen Tageszeiten der drei Tagesabläufe.

Tageszeit	Tage		
	7./8.6.72	20./21.7.72	27./28.9.72
12 Uhr	1,32	5,16	4,1
16 Uhr	1,65	5,16	3,76
Sonnenuntergang	1,38	4,91	4,63
Sonnenaufgang	1,39	5,38	4,04

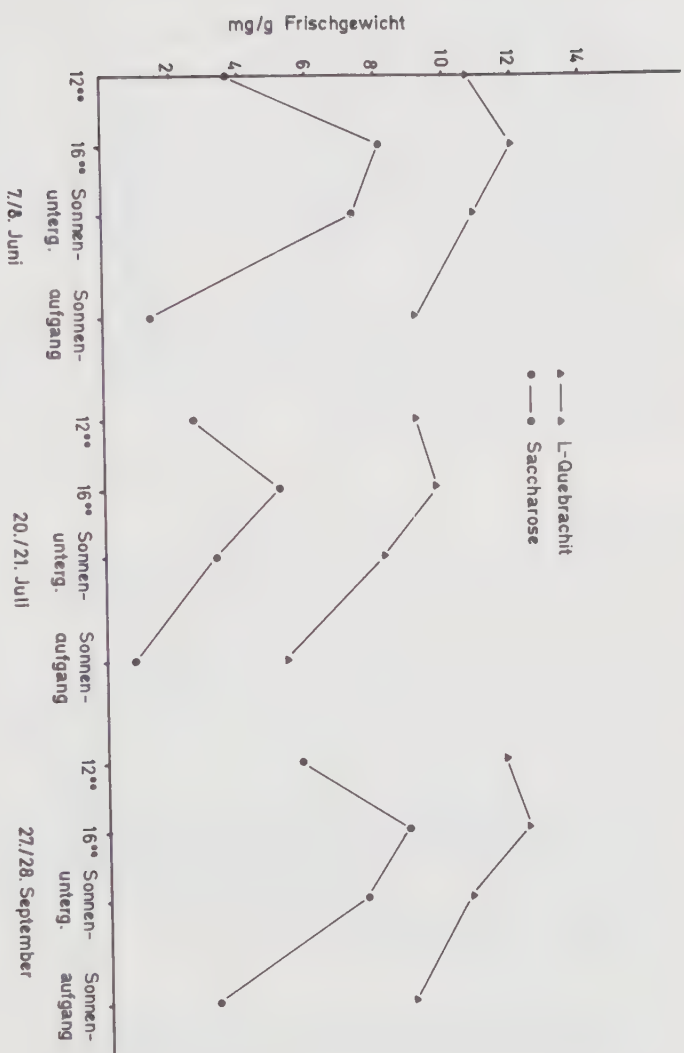


Abb. 16: Der Gehalt an L-Quebrachit und Saccharose in Blättern von *Acer pseudo-platanus* in Abhängigkeit von der Tageszeit.

Die Kurven für Saccharose sind grundsätzlich ähnlich, jedoch fällt bei näherer Betrachtung auf, daß die Differenzbeträge zwischen den Maximal- und Minimalwerten wesentlich höher sind als die für L-Quebrachit. So weisen die Blätter bei Sonnenaufgang nur mehr 17 % im Sommer und 35 % im Herbst der am Nachmittag des Vortages gefundenen Saccharose auf. Ein weiterer Unterschied zeigt sich in der Bildung der beiden Kohlenhydrate am Tage. Während die Konzentration an Saccharose nach 12 Uhr noch steil ansteigt, ist die Synthese von L-Quebrachit zum größten Teil am Vormittag abgeschlossen.

Der Befund, daß der Gehalt an L-Quebrachit abnimmt, kann als Hinweis dafür genommen werden, daß er in den Stamm abgeleitet wird, zumal eine mehrtägige Fütterung von L-Quebrachit-u-¹⁴C im Blatt keine Umwandlungsprodukte ergab.

4.1.2 Im Sproß

Die Ergebnisse der getrennt durchgeführten Untersuchungen von Holz und Rinde sind in der Abb. 17 festgehalten.

Wie zu ersehen ist, zeigen die Kurven von L-Quebrachit und Saccharose während eines Jahres auffallende Gemeinsamkeit. Im Herbst, beim Blattfall werden im Sproß die höchsten Werte erreicht, die über den Winter hinweg nur in geringem Maße abnehmen. Ein starker Einbruch ist dann im Frühjahr (April) zu verzeichnen, wobei die Rinde wesentlich stärker betroffen ist als das Holz. Eine weitere leichte Abnahme von L-Quebrachit und Saccharose in beiden Pflanzengewebe bis zum Juni bzw. Juli festzustellen. Anschließend steigt die Konzentration der beiden Kohlenhydrate - vor allem in der Rinde - wieder steil an.

Das Verhalten von L-Quebrachit in den Speicherorganen ist kennzeichnend für einen Reservestoff. Dem niedrigen Gehalt im Sommer

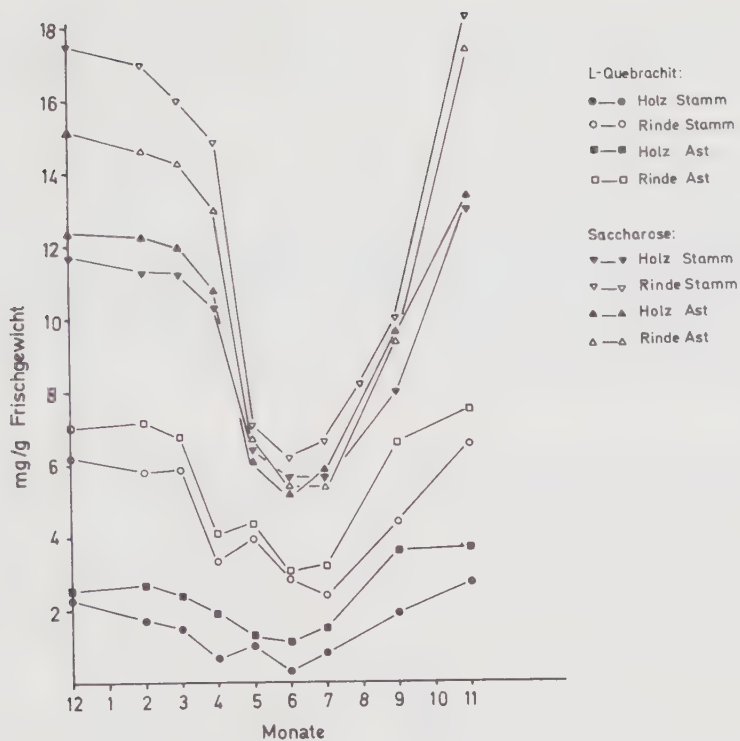


Abb. 17: Der Gehalt an L-Quebrachit und Saccharose im Stamm und in den Ästen von *Acer pseudo-platanus* in Abhängigkeit von der Jahreszeit.

steht die Anhäufung auf über das Doppelte im Winter gegenüber. Typische Übergangsverhältnisse liegen von März bis Mai einerseits und von August bis Oktober andererseits vor.

4.1.3 Im Blutungssaft

Acer gehört neben Betula, Carpinus und Vitis zu den stark blutenden Holzgewächsen. Analysendaten sind mehrfach in der Literatur zu finden (Heyl 1933, Löhr 1953, Mothes und Engelbrecht 1953, Wolfgang und Mothes 1953, Lundegardh 1955, Ziegler 1956, Stinson 1967).

L-Quebrachit wurde zum ersten Mal von Stinson et al. (1967) im Blutungssaft bei Acer saccharinum beschrieben, während für Acer pseudo-platanus neben Glucose und Fructose nur Saccharose bekannt war (Ziegler 1956). Bei unseren Untersuchungen konnte L-Quebrachit auch in Acer pseudo-platanus festgestellt werden. In der Abb. 18 ist der Gehalt an L-Quebrachit während des Winters und Frühjahrs wiedergegeben.

Die Konzentration von L-Quebrachit bleibt über den Winter hin nahezu unverändert (Abb. 18). Im Frühjahr ist dann beim Knospentrieb eine stärkere Abnahme festzustellen. Dieses Ergebnis steht in gutem Einklang mit den Beobachtungen von Stinson et al., die ebenfalls einen Konzentrationsabfall von L-Quebrachit am Ende der "Sap Season" bei Acer saccharinum in Kanada fanden.

Saccharose zeigt einen ähnlichen Kurvenverlauf (Abb. 18). Sie ist im Dezember in hoher Konzentration vorhanden und nimmt über den Winter ein wenig zu (Maximum 17. Feb. 2,5 %), um dann innerhalb von 18 Tagen (17. März - 4. April) über die Hälfte abzunehmen.

Stinson und Mitarbeiter, die bei den Untersuchungen mit *Acer saccharinum* die Kohlenhydrate mit dem Gaschromatographen quantitativ bestimmten, stellten fest, daß L-Quebrachit im Blutungssaft immer in höheren Konzentrationen vorliegt, als Glucose und Fructose zusammen. Eine quantitative Bestimmung der beiden Monosaccharide wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt, aber wenn man die Menge der Kohlenhydrate, die auf Vergleichschromatogrammen mit alkalischem Silbernitrat sichtbar gemacht wurden, abschätzt, so gilt die Feststellung von Stinson et al. durchaus auch für *Acer pseudo-platanus*. Glucose und Fructose zeigen sich im Gegensatz zu den intensiv gefärbten Flecken von Saccharose und L-Quebrachit nur in Spuren.

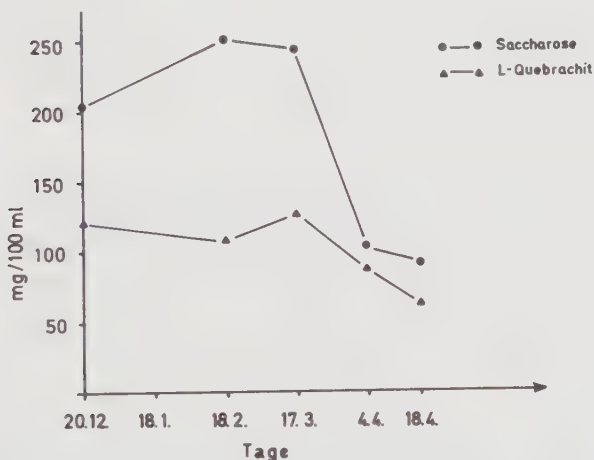


Abb. 18: Der Gehalt an L-Quebrachit und Saccharose im Blutungssaft von *Acer pseudo-platanus* während des Winters und Frühjahrs (Saccharose 10 x verkleinert).

3.2.2 Der Einfluß des Blattalters auf die Bildung der Methylinosite

Dittrich und Kandler (1971) konnten zeigen, daß in den Nadeln von Gymnospermen die Bildung der Cyclite (siehe Abb. 3) hauptsächlich während der Nadelentwicklung erfolgt. Bei Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ wurde im Winter nur die Ausgangsverbindung myo-Inosit radioaktiv markiert. In der folgenden Vegetationsperiode wird dann von den einjährigen Nadeln die Synthese der Methylderivate zwar wieder aufgenommen, jedoch in wesentlich geringerem Umfang als in den jungen Nadeln.

Ähnliche Ergebnisse erhielten wir mit Ahornblättern bei der Bildung der Methylinosite. In der Tabelle 9 ist zunächst die prozentuale Verteilung der Radioaktivität auf die Inosite und Saccharose nach 8 Stunden Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ angegeben. Im Frühjahr sind nach dieser Zeit 6,3 % im noch wachsenden Blatt bzw. 9,2 % im expandierten Blatt und im alten Blatt im Herbst nur mehr 3,7 % der gesamten Radioaktivität in den Inositen zu finden.

Auffallend niedrig ist der Anteil von Saccharose am ^{14}C in den Blättern im Frühjahr (4,7 bzw. 8,9 %). Aus der Tabelle I im Anhang wird ersichtlich, daß schon nach dieser Zeit die Phenolkörper insgesamt am stärksten markiert sind, während im Herbst ihre Synthese und die der Inosite zurückgedrängt ist. Die Saccharose ist mit ihrem Aktivitätsanteil von 38,3 % dann die dominierende Verbindung. (siehe auch Tab. III im Anhang).

In der Tabelle 10 ist die prozentuale Verteilung der Markierung innerhalb der Inosite ebenfalls nach 8 Stunden Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ festgehalten. Bei rascher Synthese der Methylderivate ist anzunehmen, daß nach dieser Zeit ein großer Teil der Markierung in den Folgeprodukten und nur ein kleinerer Teil im Ausgangsprodukt lokalisiert ist, während bei geringer Synthesegeschwindigkeit die Masse des ^{14}C noch in der Ausgangsverbindung verbleibt.

Tab. 9 Prozentuale Verteilung der Radioaktivität auf Saccharose und die Inosite nach 8 Std. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$

Verbindungen	Frühjahr		Herbst
	wachsendes Blatt	expand. Blatt	expand. Blatt
Saccharose	4,7	8,9	38,3
myo-Inosit	1,6	3,6	2,3
D-Bornesit	2,9	3,7	1,1
L-Quebrachit	1,8	1,9	0,3
Inosite			
gesamt	6,3	9,2	3,7

Tab. 10 Prozentuale Verteilung der Radioaktivität innerhalb der Inosite nach 8 Std. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$

Inosite	Frühjahr		Herbst
	wachsendes Blatt	expand. Blatt	expand. Blatt
myo-Inosit	26,1	39,2	61,9
D-Bornesit	46,0	39,9	30,4
L-Quebrachit	27,9	20,9	8,4

Aus der Tabelle 10 ist zu ersehen, daß im noch nicht voll expandierten, wachsenden Blatt tatsächlich der geringste Teil im myo-Inosit, der Hauptteil schon im D-Bornesit und ein erheblicher Teil im L-Quebrachit zu finden ist. Im voll expandierten Blatt haben die Inosite insgesamt mit 9,2 % zwar den höchsten Anteil am ^{14}C (siehe Tabelle 9), aber innerhalb der Inosite sind die Zahlen schon zugunsten von myo-Inosit und zuungunsten von L-Quebrachit verschoben, und im alten Blatt, also im Herbst, kurz vor der Vergilbung, ist diese Tendenz noch stärker ausgeprägt.

Demnach kann man annehmen, daß die Synthese der Methylinosite im jungen, noch wachsenden Blatt während des Frühjahrs ihr Maximum erreicht und mit dem Blattalter kontinuierlich absinkt. Die Verhältnisse entsprechen also ganz denen bei Gymnospermennadeln, nur daß natürlich hier die Winterruhe durch das Absterben der Laubblätter ersetzt ist.

3.2.3 Ableitung der Inosite vom Blatt in die Wurzeln

Um die Ableitung von L-Quebrachit direkt zu prüfen, wurde die Verteilung der Radioaktivität auf Blatt, Sproß und Wurzel von Sämlingen nach Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ bzw. Fütterung von L-Quebrachit- ^{14}C an das Blatt untersucht.

Die beiden fünf Monate alten Sämlinge von *Acer pseudo-platanus* wiesen den gleichen Verholzungsgrad auf und hatten neben den Kotyledonen nur Primärblätter ausgebildet. Die Kotyledonen wurden vor Versuchsbeginn von den Pflanzen abgetrennt.

Nach 22 Std. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ (1,2 mC ^{14}C , 20 000 Lux) wurde das erste Pflänzchen (Sämling I) getrennt nach Blättern, Sproß und Wurzel in der üblichen Weise extrahiert. Das andere Pflänzchen (Sämling II) wurde im Labor am Fenster in normaler Atmosphäre stehen gelassen und nach zwei Tagen ebenso extrahiert.

3.2.3.1 Aktivitätsverteilung auf die Transportstrecke

In der Tabelle 11 ist die gesamte Radioaktivität in den löslichen Fraktionen und ihre prozentuale Verteilung auf die einzelnen Pflanzenorgane angegeben. Dabei fällt auf, daß der Sämling II im Vergleich zum Sämling I fast die doppelte Menge an Radioaktivität im "Löslichen" aufweist. Da sich beide Pflänzchen in der gleichen $^{14}\text{CO}_2$ Atmosphäre befanden, kann dies eigentlich nur durch eine unterschiedliche Assimilationsfähigkeit der Sämlinge erklärt werden. Die Aktivitätsverteilung auf die einzelnen Organe nach Beendigung der Photosyntheseperiode in $^{14}\text{CO}_2$ (Sämling I) zeigt einen nahezu linearen Abfall zur Wurzel hin. Nach zwei Tagen Verdünnung mit $^{12}\text{CO}_2$ (Sämling II) ist die Aufteilung der Radioaktivität zugunsten des Sproßes verschoben. Der Abfall zur Wurzel hin ist besonders drastisch.

Tab. 11: Insgesamt in den löslichen Fraktionen der Pflanze aufgefundene Radioaktivität* und ihre prozentuale Verteilung auf die einzelnen Pflanzenorgane nach 22 Stunden Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ und nach 2 Tagen in normale Atmosphäre.

Versuch	Sämling I 22 Std. PS in $^{14}\text{CO}_2$	Sämling II 22 Std. PS in $^{14}\text{CO}_2$ + 2 Tage $^{12}\text{CO}_2$	
insgesamt gef. Radioaktivität *	4 333,3	8 101,6	
	% Anteil in den einzelnen Fraktionen		
	Blätter	55,5	40,6
	Sproß	29,5	50,9
	Wurzel	14,9	8,5

* Radioaktivität in 10^3 dpm

3.2.3.2. Aktivitätsverteilung auf einzelne Substanzen

In der Tabelle 12 ist der prozentuale Anteil von Saccharose, Glucose und Fructose, den Inositen und den beiden Carbonsäuren Shikimisäure und Chinasäure am ^{14}C -Gehalt der Gesamtaktivität im Blatt und im Sproß der Sämlinge I und II angegeben. Daneben sind die Quotienten der prozentualen Anteile von Saccharose zu denen der anderen Verbindungen im Blatt und im Sproß aufgeführt.

Für die Besprechung dieser Tabelle müssen folgende Vorgänge berücksichtigt werden:

1. Die Ableitung der Verbindungen
2. Die verschieden rasche Markierung im Blatt
3. Die Neusynthese im Sproß
4. Die Speicherung im Sproß

Nach 22 Std. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ können wir annehmen, daß die Verhältnisse noch vorwiegend die Ableitung widerspiegeln. Es zeigt sich folgendes Bild: Die Markierung der Saccharose dominiert erwartungsgemäß im Blatt und in noch ausgeprägterem Maß im Sproß. Relativ hoch sind auch die Anteile von Glucose und Fructose, wobei sie im Sproß nur wenig unter denen des Blattes liegen. Sämtliche Inosite haben zu diesem Zeitpunkt nur geringe Anteile an ^{14}C , da sie offenbar langsamer synthetisiert werden als die Zucker. Zum Sproß hin ergibt sich ein deutlicher Abfall. Die Aktivitätsanteile der beiden Carbonsäuren sind ebenfalls klein, jedoch in beiden Pflanzenorganen etwa gleich groß.

Die Quotienten $\%$ -Saccharose/ $\%$ -Inosit liegen für alle drei Inosite im Sproß wesentlich, d. h. um den Faktor 5 bis 27 höher als im Blatt (z. B. D-Bornesit 9,8 bzw. 51,6 oder L-Quebrachit 19,0 bzw. 516,0). Man kann daraus folgern, daß die Inosite gegenüber Saccharose stark diskriminiert und kaum abgeleitet worden sind. Einschränkend muß man aber berücksichtigen, daß sie bei der Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ im Blatt gegenüber Saccharose verzögert markiert werden. Damit kommen die markierten Inosite auch verzögert zur Ableitung und zumindest ein Teil der Diskriminierung könnte nur vorgetäuscht sein.

Tab. 12: Prozentualer Anteil verschiedener Verbindungen am ^{14}C -Gehalt der löslichen Fraktion im Blatt und Sproß nach 22 Std. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ und einer anschließenden Periode von 2 Tagen in $^{12}\text{CO}_2$.

Versuch	Sämling I 22 Std. P.S. in $^{14}\text{CO}_2$				Sämling II 22 Std. P.S. in $^{14}\text{CO}_2$ + 2 Tage in $^{12}\text{CO}_2$			
	Blatt	$\frac{\% \text{Sacch.}}{\% \text{ x}}$	Sproß	$\frac{\% \text{Sacch.}}{\% \text{ x}}$	Blatt	$\frac{\% \text{Sacch.}}{\% \text{ x}}$	Sproß	$\frac{\% \text{Sacch.}}{\% \text{ x}}$
Saccharose	28,5	-	51,6	-	2,0	-	7,2	-
Glucose	17,0	1,6	14,7	3,5	2,2	0,9	10,0	0,7
Fructose	16,1	1,7	14,5	3,5	1,9	1,1	9,6	0,7
myo-Inosit	2,7	10,5	0,5	103,2	4,4	0,5	1,0	7,2
D-Bornesit	2,9	9,8	1,0	51,6	0,9	2,2	1,2	6,0
L-Quebrachit	1,5	19,0	0,1	516,0	9,0	0,22	16,0	0,4
Shikimisäure	1,4	19,0	1,2	43,0	5,2	0,38	18,0	0,45
Chinasäure	4,8	5,8	4,4	11,7	28,9	0,06	27,1	0,26

Betrachtet man die Verteilung der Radioaktivität auf die Zucker und Inosite nach zweitägiger Verdrängung mit $^{12}\text{CO}_2$, so stellt man folgende Veränderungen fest. Der Anteil der Saccharose ist in beiden Pflanzenteilen stark zurückgetreten. Die Anteile der beiden Monosaccharide sind im Blatt ebenfalls stark gesunken; im Sproß werden sie zwar auch kleiner, aber sie liegen nun deutlich über dem Anteil der Saccharose. Der Anteil von myo-Inosit wird im Blatt und im Sproß erhöht, während der von D-Bornesit im Blatt abnimmt und im Sproß etwa gleich bleibt. L-Quebrachit erreicht im Blatt und im Sproß die höchsten Anteile innerhalb der Kohlehydrate.

Es konnte erwartet werden, daß alle Zucker nach dieser relativ langen Verdrängungszeit im Blatt an Aktivität verlieren. Die hohen Anteile von Glucose und Fructose im Sproß beruhen vermutlich auf der Spaltung von Saccharose, da die Ableitung der Monosaccharide im allgemeinen sehr gering ist. Sucht man eine Erklärung für die Werte der Inosite im Blatt, so muß man auf die Verteilung der Radioaktivität unmittelbar nach der Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ (Sämling I) zurückgreifen. Die dabei etwa gleich hohen Anteile von myo-Inosit und D-Bornesit an ^{14}C im Blatt könnten eigentlich nur bedeuten, daß der Pool von D-Bornesit größer ist als der für seinen unmittelbaren Vorläufer myo-Inosit. Da dies jedoch, wie aus mit alkal. Silbernitrat besprühten Chromatogrammen zu ersehen war, mit Sicherheit nicht der Fall ist, müssen wir annehmen, daß die Aktivität aus den Zuckern in zwei getrennte Pools von myo-Inosit fließt. Dabei ist der eine ein größerer Speicherpool, während daneben ein kleinerer Pool gefordert werden muß, aus dem die Bildung der Methylinosite erfolgt.

In der zweitägigen Verdrängung mit $^{12}\text{CO}_2$ wird dann die Aktivität aus dem kleinen Pool stark herausverdünnt, während der Speicherpool noch geringe Aktivität aus den Zuckern erhält und anscheinend nur langsam mit dem aktiven Pool austauscht. Endgültig wird die Aktivität dann in L-Quebrachit gespeichert.

Da die Aktivitätsanteile der Zucker und Inositol im Blatt und im Sproß unter 50 % liegen, erhebt sich die Frage nach anderen radioaktiv markierten Verbindungen. Es handelt sich dabei vor allem um China- und Shikimisäure, in die erstaunliche Anteile an ^{14}C gewandert sind.

Die beschriebenen Verschiebungen der markierten Photosyntheseprodukte werden sehr gut durch die Autoradiogramme des Blatt- und Sproßextraktes (Abb. 19 und Abb. 20) veranschaulicht.

Da die radioaktive Markierung nicht unbedingt die tatsächlichen Poolgrößen der untersuchten Verbindungen wiedergibt, wurden, um die Substanzmengen schätzen zu können, Chromatogramme des Blatt- und Sproßextraktes von Sämling II mit alkal. Silbernitrat besprüht. L-Quebrachit zeigt dabei sowohl im Blatt als auch im Sproß die intensivste Bräunung und den größten Fleck. Etwa halb so groß war in beiden Pflanzenteilen der Fleck für Saccharose. Die beiden Monosaccharide, die im Blatt etwa dieselbe Fleckengröße wie Saccharose aufwiesen, konnten im Sproß kaum nachgewiesen werden. Ähnlich verhielt sich myo-Inositol. D-Bornesin war im Blatt und im Sproß nur in Spuren nachweisbar.

Der Fleck für Chinasäure war in beiden Pflanzenteilen etwa wie der der Saccharose. Shikimisäure konnte im Blatt nur schwach und im Sproß überhaupt nicht nachgewiesen werden.

Der hohe Anteil von Shikimi- und Chinasäure an der Markierung nach der Verdrängung mit $^{12}\text{CO}_2$ und ihre relativ geringe Diskriminierung gegenüber Saccharose bei der Ableitung während der 22-stündigen Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ (der Quotient von Saccharose: Shikimi- bzw. Chinasäure liegt im Sproß nur doppelt so hoch als im Blatt) sprechen dafür, daß diese beiden Verbindungen bei Acer gut abgeleitet werden.

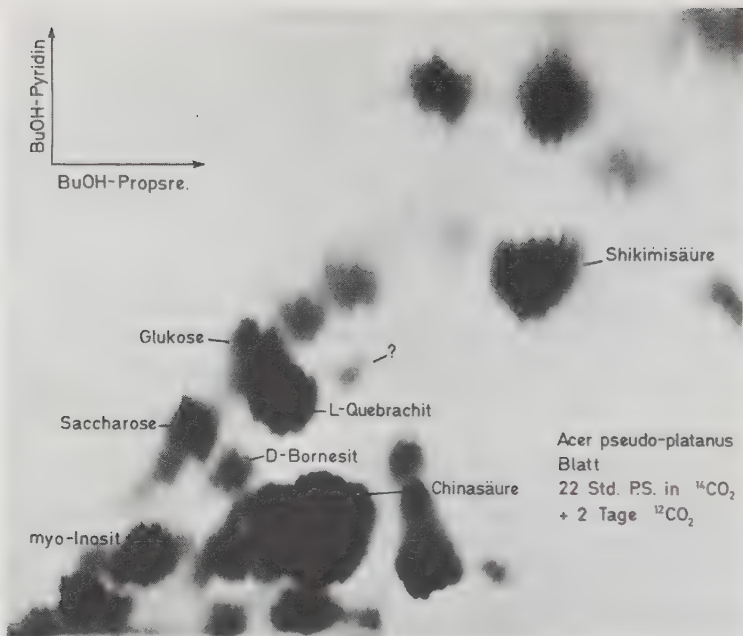


Abb. 19: Radioautogramm des Blattertraktes eines Sämlings von *Acer pseudo-platanus* nach 22 Std. P.S. in $^{14}\text{CO}_2$ und 2 Tage in $^{12}\text{CO}_2$

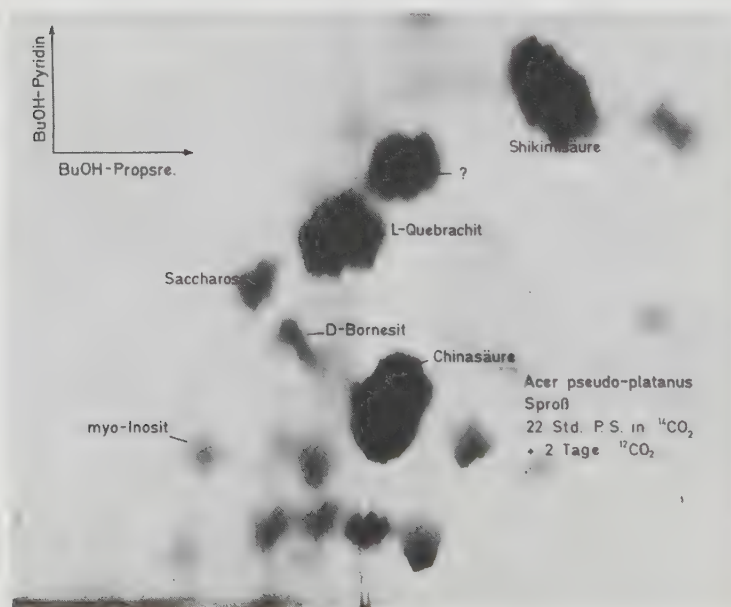


Abb. 20: wie Abb. 19, jedoch Sproßextrakt

Der hohe Anteil von L-Quebrachit an der Markierung im Sproß nach der 48-stündigen Verdrängungsperiode spricht zumindest für eine gute Speicherung dieser Verbindung. Dabei kann allerdings nicht eindeutig entschieden werden, ob er aus dem Blatt abgeleitet oder aus abgeleiteter Saccharose gebildet wurde. Ebenso kann keine eindeutige Aussage darüber für myo-Inosit und D-Bornesit gemacht werden.

3.2.3.3 Ableitung von L-Quebrachit bei Zufuhr durch das Blatt

Um eine Überlagerung von Transport und von Neusynthese aus abgeleiteten Verbindungen, wie sie sich bei der Markierung durch Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ zwangsläufig ergibt, zu vermeiden, wurde versucht, L-Quebrachit-u- ^{14}C direkt in das an einem Sämling belassene Pflänzchen in einen Exsikkator gestellt, ein Blatt eingerollt und vorsichtig in ein Glasröhrchen (Durchmesser 0,5 cm) geschoben, das die radioaktive L-Quebrachit-u- ^{14}C -Lösung enthielt. Durch periodisches Anlegen von Unterdruck wurde versucht, das Blatt mit der radioaktiven Lösung zu infiltrieren. Nach drei Stunden wurde das Blatt im fließenden Wasser abgespült und das Pflänzchen im Gewächshaus belassen.

Sechs Tage danach wurden Blatt, Blattstiel, Epikotyl, Hypokotyl und Wurzel getrennt extrahiert. In den Extrakten wurden insgesamt 18,9 % der angebotenen Radioaktivität gefunden. Die Verteilung der Radioaktivität auf die einzelnen Pflanzenorgane ist der Tabelle 13 zu entnehmen.

Eine Anhäufung der Radioaktivität ist dabei im Epikotyl festzustellen. Dies kommt besonders gut zum Ausdruck, wenn man diese Werte, die in der Tabelle 13 in dpm/mg Frischgewicht angegeben sind, vergleicht. Dabei ergibt sich ein starker Abfall zum Hypokotyl und zur Wurzel hin.

Die chromatographische Analyse der löslichen Fraktionen zeigte, daß in sämtlichen Geweben nur L-Quebrachit markiert war. Diese Ergebnisse

Tab. 13: Verteilung der Radioaktivität auf die Pflanzenorgane nach Zufuhr von L-Quebrachit- ^{14}C an das Blatt.

	dpm *	% **	mg Fg.w.	$\frac{\text{dpm}}{\text{mg Fg.w.}}$
Blatt	106 010	12,2	71,7	1 478
Blattstiel	3 620	0,4	5,5	654
Epikotyl	43 050	4,9	11,3	3 805
Hypokotyl	11 150	1,3	57,3	195
Wurzel	390	0,04	127,3	3

* insgesamt gefundene Radioaktivität in den einzelnen Pflanzenteilen

** prozentuale Verteilung der Radioaktivität auf die einzelnen Pflanzenteile bezogen auf 189 % vom aufgenommenen L-Quebrachit.

zeigen, daß L-Quebrachit gut abgeleitet wird. Man darf allerdings daraus nicht schließen, daß L-Quebrachit im Sproß nicht metabolisiert werden kann, da wegen der geringen Radioaktivität eventuell auftretende Metabolite möglicherweise nicht nachweisbar waren.

3.2.4. Untersuchungen über die Wiederverwendung der Inosite

Abschließend soll noch die Frage erörtert werden, ob und in welchem Umfang die Gewebe von Acer die Cyclite, insbesondere L-Quebrachit ab- bzw. umbauen können. Um eine Vorstellung darüber zu erhalten, wurden uniform markierte Cyclite an Knospen- bzw. Blatt-tragende terminale Aststücke von Acer pseudo-platanus verfüttert. Hinzu kam ein Versuch, bei dem im Sommer Holz- bzw. Bindengewebestücke direkt in einer L-Quebrachit-u- ^{14}C -Lösung inkubiert wurden. Zum Vergleich wurde an Kontrollproben Saccharose-u- ^{14}C appliziert.

3.2.4.1. Versuche mit Knospen-tragenden Zweigstücken im Winter und Frühjahr

Etwa 1 cm lange Aststücke mit Knospen wurden abgeschnitten und in 200 μl der entsprechenden Lösungen eingestellt. (Die Radioaktivität der verfütterten Substanzen ist in den einzelnen Tabellen aufgeführt; die spez. Aktivitäten waren nicht bekannt.) Die vier äußeren, gegenseitig angeordneten Knospenschuppen wurden vor Versuchsbeginn entfernt. Während der gesamten Applikationszeit wurde am Tage mit ca. 20 000 Lux belichtet.

Stellvertretend für die in den drei ersten Monaten des Jahres durchgeführten Versuche ist der vom Februar herausgegriffen, denn die Ergebnisse der Versuche der beiden anderen Monate sind grundsätzlich die gleichen, obwohl von Januar bis März eine deutliche Volumenvergrößerung der Knospen, verbunden mit einer Gewichtszunahme, festzustellen war.

In der Tabelle 14 sind die Ergebnisse der Fütterung von Saccharose-u- ^{14}C zusammengefaßt. Im Sproß ist bei beiden Entnahmen etwa doppelt

Tab.14: Prozentuale Verteilung der Aktivität* auf die verschiedenen Verbindungen im Sproß und in der Knospe von Acer pseudo-platanus nach Applikation von Saccharose- ^{14}C ($2,7 \times 10^5$ dpm pro Versuch) im Februar 1972.

Pflanzen- material	Verbindungen					Appli- kations- dauer
	Saccharose	Glucose	Fructose	L-Quebrachit	andere Verb.	
Knospe Sproß	63,6 29,4	2,9 7,5	0,9 5,1	1,8 5,1	30,7 51,9	2 Tage
Knospe Sproß	75,7 36,8	2,7 5,7	1,2 2,4	3,6 6,4	16,7 48,6	6 Tage

* % des applizierten Vorläufers

soviel Saccharose in andere Verbindungen umgebaut worden als in der Knospe. Neben den beiden Monosacchariden Glucose und Fructose weist L-Quebrachit einen bemerkenswerten Anteil an der Gesamtaktivität auf. Dies zeigt, daß auch im Winter aus Zuckern L-Quebrachit gebildet wird.

In der Spalte "Andere Verbindungen" sind überwiegend Amino- und Carbonsäuren zusammengefaßt. Die Ergebnisse der Fütterung von myo-Inosit-u- ^{14}C sind in der Tabelle 15 dargestellt. Das Spektrum der entstandenen Verbindungen ist im Vergleich zur Saccharosefütterung stark eingeschränkt. Wenn man von der Radioaktivität an der Auftragestelle einmal absieht, sind im Sproß und in der Knospe nur drei Verbindungen, nämlich D-Bornesit, L-Quebrachit und Glucuronsäure radioaktiv markiert worden. Der Vergleich der Werte der durch Methylierung entstandenen Methylinosite mit denen der durch oxydative Ringöffnung des myo-Inosits gebildeten Glucuronsäure zeigt, daß diese beiden Wege etwa in gleichem Umfang beschritten worden sind. Bei der Saccharose-u- ^{14}C Fütterung konnte kein D-Bornesit auf den Radioautogrammen entdeckt werden. Der hohe Anteil von D-Bornesit an der Radioaktivität bei der Fütterung von myo-Inosit-u- ^{14}C ist auf die hohe spez. Aktivität des unmittelbaren Vorläufers zurückzuführen, während im Falle der Saccharose-u- ^{14}C -Fütterung bei der Bildung der Inosite erst mehrere Schritte mit jeweiliger Verdünnung der Markierung durchlaufen werden müssen. Auf das radioaktiv markierte Material, das auch bei den folgenden Versuchen nach der Chromatographie auf der Auftragestelle noch zu messen war, wird am Ende dieses Kapitels näher eingegangen. Die Verfütterung von L-Quebrachit ($1,2 \times 10^5$ dpm pro Versuch) ergab nahezu keinen Einbau in andere Verbindungen. Am Auftragepunkt befanden sich nach der Chromatographie der Extrakte von Sproß und Knospe 0,4 - 1,2 % des angebotenen ^{14}C .

Um auch geringe Mengen von Radioaktivität, die auf dem Autoradiogramm nicht in Erscheinung traten, zu erfassen, wurde das ein-

Tab. 15: Prozentuale Verteilung der Aktivität* auf die verschiedenen Verbindungen im Sproß und in der Knospe von *Acer pseudo-platanus* nach Applikation von myo-Inosit ($0,54 \times 10^5$ dpm pro Versuch) im Februar 1972.

Pflanzenmaterial	Verbindungen				Aktivität an der Auftragsstelle	Applikationsdauer
	myo-Inosit	D-Bornesit	L-Quebrachit	Glucuronsäure		
Knospe Sproß	78,3 84,4	4,2 5,2	6,8 3,0	3,5 2,8	7,1 3,8	2 Tage
Knospe Sproß	68,7 62,5	12,3 8,1	13,1 8,3	13,2 10,9	7,5 9,9	6 Tage

* % des applizierten Vorläufers

dimensionale Chromatogramm auch außerhalb der Auftragestelle und der "L-Quebrachit-Bande" gezählt. Dies ergab einige Prozent der Radioaktivität, ohne daß jedoch distinkte Flecken auf den Autoradiogrammen zu erkennen waren.

Eine weitere Verfütterung von L-Quebrachit-u- ^{14}C wurde am 3. Mai des gleichen Jahres durchgeführt. Hierbei wurden zwei Aststücke verwendet, deren Knospen sich unmittelbar vor dem Öffnen befanden. Um bei der Applikation auch das von der Pflanze ausgeschiedene CO_2 zu messen, wurde im Gegensatz zu den bisherigen Versuchen das Aststück in einem geschlossenen Luftraum gehalten (Abb. 21). Während des sechs bzw. neun Tage dauernden Versuchs wurde das System gleichmäßig mit Luft durchströmt und das freiwerdende CO_2 in Kalilauge absorbiert. Die Knospen öffneten sich während der Versuchszeit. Die Extrakte der verschiedenen Fraktionen (äußere, braune Knospenschuppen, junge Blätter, Blütenanlage) wurden wie üblich chromatographisch analysiert. Das Sproßstück wurde in Rinde und Holz unterteilt.

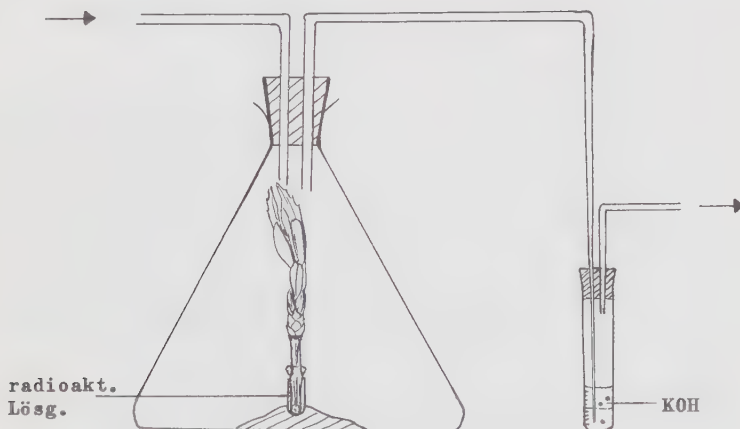


Abb. 21: Apparatur zur Applikation radioaktiver Verbindungen an Aststücke mit Knospe bzw. Blatt von *Acer pseudo-platanus*.

Vom eingesetzten L-Quebrachit-u- ^{14}C wurden nach 6 Tagen 64,4 %, nach 9 Tagen 59,5 % in den gesamten löslichen Fraktionen und 8,1 % bzw. 9,9 % der Radioaktivität im ausgeschiedenen $^{14}\text{CO}_2$ wiedergefunden.

Aus den Bestandteilen der Knospe konnte nur L-Quebrachit isoliert werden, während im Extrakt des Sprosses geringe Mengen markierten L-Inosits und myo-Inosits gefunden wurden (Tab. 16). Die Identität der beiden Inosite wurde durch Cochromatographie in den Lösungsmitteln 1, 2 und 3 bestätigt. Radioaktiv markierte Uronsäuren konnten nicht gefunden werden.

3.2.4.2 Versuche mit Blatt-tragenden Aststücken im Sommer

3.2.4.2.1 Applikation von L-Quebrachit

Die für diese Versuche benützten terminalen Aststücke gliederten sich in einen verholzten, zweijährigen Sproßabschnitt, einen grünlichen, nur schwach verholzten einjährigen Sproßabschnitt und den Blattstiel mit dem Blatt. Die Extrakte wurden getrennt nach diesen Organen gewonnen, wobei der zweijährige Sproßabschnitt noch in Holz und Rinde unterteilt wurde.

Die Applikation von L-Quebrachit-u- ^{14}C im Juli 1972 (5 Tage) brachte folgendes Ergebnis: Mit Ausnahme der Rinde des zweijährigen Sproßabschnittes zeigten die Radioautogramme der eindimensionalen Papierchromatogramme der einzelnen Fraktionen nur einen Fleck, nämlich L-Quebrachit. Die Aufteilung der Radioaktivität auf die einzelnen Verbindungen des Rindenextraktes ist in der Tabelle 17 dargestellt. Die Angabe von L-Inosit, myo-Inosit und Glucose erfolgte dabei nach Cochromatographie der Verbindungen im Lösungsmittelsystem II (siehe Material und Methoden).

Das Laufverhalten der Verbindung A im gleichen Lösungsmittelsystem (die Verbindung A zeigt Braunfärbung bei Behandlung mit alkal. Silbernitrat) wies darauf hin, daß es sich dabei um Acerit (Polygalit)*

*Acerit, als Bestandteil von Acertannin, konnte mit dem Polygalit aus verschiedenen Polygala-Arten identifiziert werden. Polygalit ist 1,5 Anhydro-D-sorbit.

Tab. 16: Prozentuale Verteilung der Aktivität* auf die verschiedenen Verbindungen in der Rinde und im Holz des Knospensprosses von *Acer pseudo-platanus* nach Applikation von L-Quebrachit ($1,4 \times 10^5$ dpm je Versuch) im Mai 1972

Pflanzenmaterial	Verbindungen			Aktivität an der Auftragsstelle	Applikationsdauer
	L-Quebrachit	L-Inosit	myo-Inosit		
Rinde	51,3	3,7	2,1	40,7	6 Tage
Holz	79,6	1,6	1,1	13,4	
Rinde	14,3	2,5	4,4	73,6	9 Tage
Holz	44,8	3,3	3,4	45,0	

* % des applizierten Vorläufers

handeln könnte. Durch Rechromatographie im Lösungsmittelsystem I konnte dies jedoch nicht bestätigt werden.

Der unbekannte Metabolit B trennte sich erst bei Rechromatographie der "L-Inosit-Zone" im Lösungsmittelsystem I ab. Auch diese Verbindung zeigt eine positive Reaktion mit alkal. Silbernitrat. Da die absoluten Mengen der Radioaktivität sehr gering waren, konnte eine nähere Charakterisierung nicht vorgenommen werden.

In einem anderen Experiment zum selben Zeitpunkt wurde L-Quebrachit-u- ^{14}C direkt an Rinden- und Holzstücke von *Acer pseudo-platanus* verfüttert. Das Holz (71,5 mg) wurde mit einem Korkbohrer als Böhrling entnommen und die Rindenstücke (54,6 mg) wurden mit dem Messer vom Stamm abgeschnitten. Für die Fütterung wurden die Gewebestücke in je ein Glasröhrchen (Durchmesser 0,5 cm) gelegt. Die zugegebenen radioaktiven L-Quebrachit-Lösungen (je 200 μl) enthielten bei diesem Versuch 0,05 mg Chloramphenicol pro 1 ml, um das Bakterienwachstum zu hemmen. Nach der fünftägigen Inkubation wurden die Gewebestücke mit fließendem Wasser abgespült und anschließend extrahiert. Die Aufnahme von L-Quebrachit war, wie zu erwarten, nicht sehr hoch. So konnten im Extrakt der Rinde nur 4,7 % und in dem des Holzes 10,3 % der angebotenen Radioaktivität wiedergefunden werden. Auf den Chromatogrammen traten neben L-Quebrachit nur L-Inosit und myo-Inosit markiert auf.

3.2.4.2.2 Applikation von myo-Inosit, D-Bornesit und L-Quebrachit

Diese Versuche wurden im August 1972 in der unter 3.2.4.1 beschriebenen Apparatur (CO_2 -Absorption) durchgeführt. Es wurden wiederum terminale Aststücke verwendet; die Applikationsdauer betrug sechs Tage.

Bei der Fütterung von myo-Inosit-u- ^{14}C wurden 45,3 % der applizierten Aktivität in der löslichen Fraktion und 2,1 % im CO_2

Tab. 17: Prozentuale Verteilung der Aktivität^{**} auf die verschiedenen Verbindungen in der Rinde^{**} eines terminalen Aststückes von Acer pseudo-platanus nach Applikation von L-Quebrachit ($3,4 \times 10^6$ dpm) im Juli 1972.

Pflanzen- material	Verbindungen					Aktivität an der Auftrags- stelle	Appli- kations- dauer
	L- Quebrachit	L-Inosit	myo- Inosit	Glucose	Verb.A	Verb.B	
Rinde	72,3	3,2	2,7	5,3	4,0	4,7	5 Tage

* % des applizierten Vorläufers

** Rinde des zweijährigen Sproßabschnittes

Tab. 18: Prozentuale Verteilung der Radioaktivität* auf die verschiedenen Verbindungen in Rinden- und Holzgewebestücken von Acer pseudo-platanus nach Applikation von L-Quebrachit ($1,7 \times 10^5$ dpm pro Gewebe)

Pflanzen- material	Verbindungen			Aktivität an der Auftrags- stelle	Appli- kations- dauer
	L-Quebrachit	L-Inosit	myo-Inosit		
Rinde	93,5	3,0	0,4	3,3	5 Tage
Holz	96,4	1,0	0,7	1,7	

* % des applizierten Vorläufers

wiedergefunden. Das Blattstück wies in diesem Fall nur geringe Aktivität auf und war bei Versuchsende vom Rande her vertrocknet. Dies beruhte auf einer Verletzung des Blattstiels knapp unter der Blattspreite beim Einstellen in die Küvette. Im folgenden wird das Blatt nicht berücksichtigt.

In den anderen Geweben zeigten sich die gleichen Verbindungen, nämlich D-Bornesit, L-Quebrachit und Glucuronsäure radioaktiv markiert (Tab. 19). Der Anteil an ^{14}C in Glucuronsäure ist zwar niedrig, aber doch signifikant. Er ist in allen Geweben etwa gleich. Wesentlich höher ist der Anteil der Methylcylite. Der Anteil des D-Bornesits ist in den einzelnen Geweben ziemlich gleich groß, während der des L-Quebrachits im Blattstiel (61,2 %) besonders hoch ist. Deutlich darunter liegt der Wert im einjährigen Sproßabschnitt (36,2 %) und wiederum darunter sind die Werte für den zweijährigen Sproßabschnitt (13,0 % bzw. 14,3 %). Man könnte diese Abstufung zuungunsten des älteren Sproßabschnittes durch den passiv in die Kapillaren aufgenommenen myo-Inosit erklären. Da jedoch die radioaktive myo-Inosit-Lösung nach sechs Stunden bereits völlig aufgenommen worden war und von diesem Zeitpunkt ab bis zum Versuchsende (5 Tage) regelmäßig Wasser zugegeben wurde, ist mit einem nennenswerten Rückstand kapillar gebundenen L-Quebrachits kaum zu rechnen. Man kann daher annehmen, daß die Epimerisierungsrate von D-Bornesit zu L-Quebrachit im älteren Gewebe tatsächlich geringer ist.

Nach sechstägiger Fütterung von D-Bornesit- ^{14}C wurden 58,2 % der applizierten Aktivität in der löslichen Fraktion und 0,9 % im CO_2 wiedergefunden. Auf den eindimensionalen Chromatogrammen sämtlicher Gewebeeextrakte traten neben dem angebotenen D-Bornesit nur L-Quebrachit und die nicht wandernden Verbindungen an der Auftragestelle radioaktiv markiert auf (Tab. 20). D-Bornesit erwies sich somit als guter Vorläufer für L-Quebrachit, während

Tab. 19: Prozentuale Verteilung der Aktivität* auf die Verbindungen eines terminalen Aststückes von *Acer pseudo-platanus* nach Applikation von myo-Inosit ($1,05 \times 10^5$ dpm) im August 1972.

Pflanzenmaterial	Verbindungen				Aktivität an der Auftragsstelle	Applikationsdauer
	myo-Inosit	D-Bornest	L-Quebrachit	Glucuronsäure		
Blattstiel einjähriger Sproßabschn. Rinde** Holz**	10,1	26,5	61,2	3,3	1,3	6 Tage
	10,7	34,2	36,2	5,5	13,2	
	27,8	26,0	13,0	3,9	28,5	
	32,1	29,7	14,3	5,1	18,5	

* § des applizierten Vorläufers

** Rinde bzw. Holz des zweijährigen Sproßabschnittes

Tab. 20: Prozentuale Verteilung der Aktivität* auf die verschiedenen Verbindungen eines terminalen Aststückes von *Acer pseudo-platanus* nach Applikation von D-Bornesit ($1,8 \times 10^5$ dpm) im August

Pflanzenmaterial	Verbindungen		Aktivität an der Auftrags- stelle	Appli- kations- dauer
	D-Bornesit	L-Quebrachit		
Blatt	21,3	78,4	0,2	6 Tage
Blattstiel	8,3	91,2	0,4	
einjähriger Sproßabschn.	35,0	62,5	2,3	
Rinde **	44,8	33,2	21,8	
Holz **	75,8	21,3	2,7	

* % des applizierten Vorläufers

** Rinde bzw. Holz des älteren Sproßabschnittes

eine Demethylierung zu myo-Inosit oder eine Ringöffnung zu Uronsäuren nicht beobachtet werden konnte. Vergleicht man den Anteil an ^{14}C der nicht wandernden Verbindungen in den einzelnen Geweben, so fällt auf, daß er im Rindenextrakt, wie auch aus den Tabellen der vergleichenden Fütterungen ersichtlich, immer den höchsten Wert erreicht.

Bei der Fütterung von L-Quebrachit-u- ^{14}C wurden 55,6 % der angebotenen Aktivität im "Löslichen" und 2 % im CO_2 gefunden. In der Tabelle 8 ist die Verteilung der Radioaktivität in den einzelnen Fraktionen angegeben. Dabei wurden im einjährigen Sproßabschnitt und in der Rinde des zweijährigen Sproßabschnittes L-Inosit und die beiden unbekannten Verbindungen A und B (wie beim Versuch im Juli) radioaktiv markiert, während in den anderen Fraktionen die Radioaktivität auf den verfütterten L-Quebrachit und auf die der Auftragestelle beschränkt blieben. Im Vergleich zum vorhergehenden Versuch ist absolut gesehen ein geringerer Verbrauch des angebotenen Cyclits festzustellen, es treten jedoch drei radioaktiv markierte Verbindungen (L-Inosit, Verbindung A und B) auf.

Um eine Vorstellung zu bekommen, welche radioaktiv markierten Verbindungen am Auftrageort verblieben sind, wurde zunächst eine Elution mit einem erwärmten Äthanol/Wasser-Gemisch versucht. Dafür wurden die Chromatogramme sämtlicher im August durchgeführten Fütterungen verwendet.

Es konnten zwischen 25 - 50 % der auf den Auftragestellen gemessenen Radioaktivität im Eluat gefunden werden; eine anschließende Chromatographie zeigte Radioaktivität wiederum nur an der Auftragestelle. Die eluierten Filterpapierstücke, auf denen sich noch 50 - 75 % der Radioaktivität befanden, wurden 2 Std. bei 100°C mit 2 n HCl behandelt.

Tab. 21: Prozentuale Verteilung der Aktivität * auf die verschiedenen Verbindungen eines terminalen Aststückes von Acer pseudo-platanus nach Applikation von L-Quebrachit ($2,32 \times 10^5$ dpm) im August 1972.

Pflanzenmaterial	Verbindungen				Aktivität an der Auftrags- stelle	Appli- kations- dauer
	L- Quebrachit	L-Inosit	Verb. A	Verb. B		
Blatt	98,0	0,0	0,0	0,0	2,0	6 Tage
Blattstiel	99,8	0,0	0,0	0,0	0,2	
einjähriger Sproßabschn.	96,9	0,8	0,5	1,0	0,7	
Rinde **	86,7	0,04	1,4	0,35	11,5	
Holz **	98,1	0,0	0,0	0,0	1,9	

* % des applizierten Vorläufers

** Rinde bzw. Holz des zweijährigen Sproßabschnittes

Die Chromatographie des Hydrolysats zeigte, daß sich 5 - 10 % des ^{14}C in der Glucose befand. Die Masse des ^{14}C fand sich wiederum auf der Auftragestelle. Hätte es sich bei dem Material um lösliche Stärke gehandelt, so wäre zu erwarten gewesen, daß sie völlig in Glucose gespalten worden wäre. Da sich die Auftragestellen beim längeren Liegen braun färben, kann man annehmen, daß es sich dabei um polymerisierte Gerbstoffe handelt, aus denen bei der Hydrolyse geringe Mengen glykosidisch gebundene Glucose abgespalten wurde.

3.2.5. Diskussion der Ergebnisse

Bei den Untersuchungen über die Wiederverwendung der Inosite mit Knospen, Blättern und dem Sproß von *Acer pseudo-platanus* konnte in mehreren Versuchen während der Vegetationsperiode gezeigt werden, daß L-Quebrachit-u- ^{14}C nur in der Rinde und im Holz des Sproßes zu markiertem L-Inosit und weiter zu markiertem myo-Inosit abgebaut worden ist. In der Rinde traten dabei im Sommer neben Glucose zwei weitere unbekannte Verbindungen radioaktiv markiert auf. Nach dem von Loewus (1965) aufgestellten Postulat (siehe auch Einleitung) mußte man in Erwägung ziehen, daß es sich dabei um Methyluronsäuren handeln könnte, die ihrerseits Vorläufer der methylierten Galacturonsäurereste im Pectin sein könnten. Dieser Verdacht wurde jedoch nicht bestätigt, da beide Metabolite in der Elektrophorese weder bei Verwendung von basischem noch bei saurem Puffer wanderten. Eine nähere Charakterisierung wurde allerdings nicht vorgenommen.

Bei der Fütterung von D-Bornesit-u- ^{14}C wurde im Sproß nur L-Quebrachit radioaktiv markiert. Da im Blatt daneben nur noch geringe Aktivität in einer unbekannten Verbindung X auftrat, die jedoch mit ziemlicher Sicherheit kein Abbauprodukt ist (siehe 3.1.3.), scheint D-Bornesit bei *Acer* ausschließlich

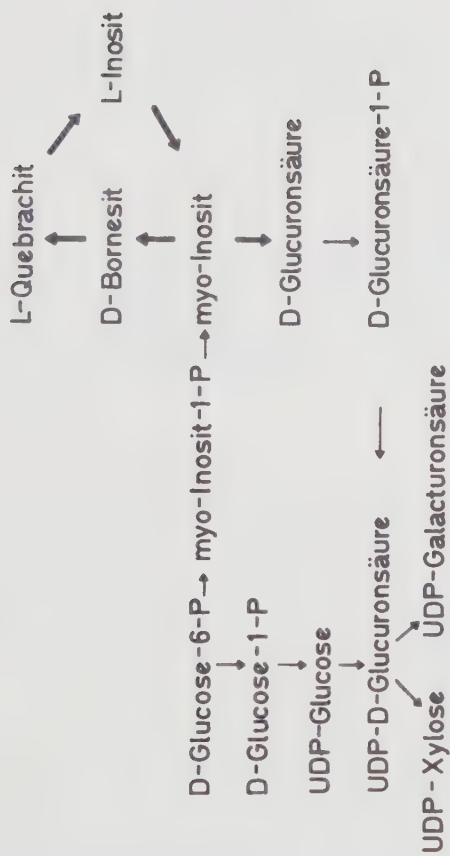


Abb. 22: Die zusammengefaßte Darstellung der biogenetischen Beziehungen zwischen myo-Inosit, den Methylinositen und Uronsäuren (→ die in dieser Arbeit gezeigten Schritte)

ein Intermediärprodukt für die Bildung von L-Quebrachit und dieser unbekannten Verbindung X zu sein.

Bei der Fütterung von myo-Inosit-u-¹⁴C wurden im Blatt nur die Inositverbindungen radioaktiv markiert, während im Sproß Radioaktivität in den beiden Methylinositen und auch in der Glucuronsäure gefunden werden konnte. Diese oxydative Ringöffnung von myo-Inosit zu Glucuronsäure konnte schon von Loewus und Mitarbeitern (1964, 1965) mehrfach in höheren Pflanzen gezeigt werden.

In der Abb. 22 sind die aus der Literatur bekannten Reaktionen über die Synthese von myo-Inosit und die Bildung von Glucuronsäure sowie die im Rahmen unserer Untersuchungen erhaltenen Befunde über die Biosynthese und die Wiederverwendung von L-Quebrachit in einem Schema zusammengefaßt (erweitert nach Loewus 1971).

Der bisher einzig bekannte Zugang zu den Inositen ist demnach die Cyclisierung von D-Glucose-6-Phosphat mit anschließender Dephosphorylierung zu freiem myo-Inosit (Loewus und Kelly 1962, Kindl et al. 1965, Chen und Charalampous 1965). Imhoff und Bourdu (1973) konnten diesen Weg vor kurzem auch in isolierten Chloroplasten nachweisen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind ein guter Hinweis dafür, daß L-Quebrachit bei Acer die quasi Speicherform für myo-Inosit ist. Über L-Inosit kann myo-Inosit dann wieder zurückgebildet werden. Es ist sehr wahrscheinlich, daß der Abbau der Inosite bei Acer auf die oxydative Ringöffnung von myo-Inosit beschränkt bleibt und anscheinend kein spezieller Abbauweg für Methylinosite besteht (siehe Abb. 22). Hinsichtlich des weiteren Abbauweges (Abb. 22) sind die Befunde von Neufeld und Hall (1965) und Loewus (1965, 1969) interessant. So konnten

Neufeld et al. zeigen, daß die aus Erbsensämlingen isolierte UDP-Glucose-Dehydrogenase durch eine geringe Konzentration von UDP-Xylose stark gehemmt ist. Andererseits deuten die Versuche von Loewus darauf hin, daß der myo-Inosit-Abbau nicht durch die UDP-Xylose-Konzentration beeinflusst wird. Somit könnte man sich vorstellen, daß die Bildung der Glucuronsäure aus myo-Inosit ein Nebenweg der UDP-Xylosebildung unter Umgehung der UDP-Glucose-Dehydrogenase-Reaktion ist.

Veröffentlichungen über den Einfluß der Tageszeit auf den Gehalt von Methylinositen in Blättern lagen bisher noch nicht vor. Die in dieser Arbeit beschriebenen Versuche zeigten an drei verschiedenen Tagen eine Konzentrationszunahme von L-Quebrachit bis in den späten Nachmittag (Maximum 16 Uhr), während der kleinste Wert jeweils unmittelbar vor Sonnenaufgang gemessen wurde.

Die Konzentrationsänderungen für Saccharose sind wesentlich drastischer, jedoch im Verlauf denen von L-Quebrachit sehr ähnlich. Für die Saccharose ist bekannt, daß die Konzentrationsabnahme in jungen Blättern zu einem wesentlichen Teil auf einen Verbrauch des Zuckers für die Bildung anderer Stoffe zurückzuführen ist, während im alten Blatt, im Herbst die Ableitung in den Sproß dominiert (Zusammenfassung der diesbezüglichen Literatur bei H.Fischer im Handbuch für Pflanzenphysiologie 1958, Band VI, S. 952).

Ähnliches könnte man sich auch für L-Quebrachit vorstellen. Da jedoch eine mehrtägige Fütterung von L-Quebrachit- ^{14}C an Blätter keine Umwandlungsprodukte ergab, kann die tägliche Konzentrationsabnahme eigentlich nur durch die Ableitung in den Sproß erklärt werden. Einen guten Hinweis für die Auswanderung aus dem Blatt bieten auch die in dieser Arbeit durchgeführten Ableitungsversuche mit Sämlingen von Acer.

Die im Jahresverlauf vorgenommenen quantitativen Bestimmungen der im Sproß vorliegenden Konzentrationen an Saccharose und L-Quebrachit zeigten, daß es im Spätherbst und Winter zu einer doppelten bis vierfachen Konzentrationserhöhung der beiden Kohlenhydrate gegenüber den Sommermonaten Juni bzw. Juli kommt.

Während die laufende Erhöhung des Gesamtkohlenhydratgehaltes sicherlich im Dienste der Speicherung für den Winter steht, wurde die Anhäufung niedermolekularer Verbindungen meist mit der Frostresistenz in Verbindung gebracht (Santarius 1971). Sehr häufig erfolgt die Umwandlung der Polysaccharide in oligomere Zucker erst nach der Vegetationsperiode, wenn die ersten Fröste auftreten, wie dies z.B. für Coniferen von Senger et al. (1971) beschrieben wurde. Im Falle der L-Quebrachitanreicherung könnte man ebenfalls an eine Mitwirkung bei der Frostresistenz denken. Dies würde vor allen Dingen dann nahe liegen, wenn auch hier die Anreicherung erst nach dem Blattfall erfolgte. Die Fähigkeit aus Reservezuckern Quebrachit zu bilden ist in der Rinde und im Holz durchaus vorhanden, wie die Fütterungsversuche mit markierter Saccharose zeigen (Tab. 14). Tatsächlich geht jedoch aus Abb. 17 hervor, daß L-Quebrachit schon während der Vegetationsperiode laufend im Stamm angereichert wird und daß dieser Vorgang zu Beginn des Winters sogar zum Stillstand kommt. Die Anreicherung ist also mehr durch laufende Ableitung aus den Blättern und nicht so sehr durch den Umbau von Polysacchariden zustande gekommen.

Auf jeden Fall fehlt die deutliche Förderung der L-Quebrachitbildung zu Beginn des Winters und damit das wesentliche Argument für eine engere Beziehung für Frostresistenz. Es ist daher für die L-Quebrachitanhäufung die Speicherfunktion anzunehmen. Ent-

sprechend wird L-Quebrachit auch im Frühjahr wieder verbraucht. Ein Teil des beim Knospenaustrieb verbrauchten L-Quebrachits wird vermutlich mit dem Blutungssaft den Zweigen und Knospen zugeführt, denn die L-Quebrachitkonzentration ist in diesem relativ hoch und fällt erst zur Zeit der Knospentfaltung stark ab. Freilich ist diese Konzentrationsabnahme nicht in vollem Umfang auf den Verbrauch allein zurückzuführen, sondern man muß auch einen Verdünnungseffekt berücksichtigen, der dann eintritt, wenn der im Winter stagnierende und daher stark angereicherte Blutungssaft mit dem Einsetzen der Transpiration z. Z. des Austriebes in Bewegung kommt und durch den sich überlagernden Transpirationsstrom verdünnt wird. Der wesentliche Versorgungsweg für die Knospen dürfte ohnehin der Phloemtransport sein, denn im Siebröhrensaft ist die Saccharosekonzentration z. Z. des Knospenaustriebes 10 mal so hoch wie im Blutungssaft (Ziegler 1956).

Auch die Ergebnisse der Ringelungsversuche von Curtis (1920) und Münch (1930) sprechen für die Notwendigkeit der Versorgung der Knospen durch das Phloem. Die Bedeutung des Blutungssaftes als Transportmittel für organische Substanzen und damit auch für L-Quebrachit, dürfte auf den Spätwinter und das erste Frühjahr beschränkt sein.

4. Zusammenfassung

Es wurde die Biosynthese von L-Quebrachit in *Acer pseudo-platanus* und in *Artemisia vulgaris* untersucht. Eine weitere Zielsetzung war, die physiologische Rolle der Inosite, insbesondere von L-Quebrachit in *Acer pseudo-platanus* näher zu charakterisieren.

Im einzelnen konnten folgende Ergebnisse erzielt werden :

1. Die Bildung von L-Quebrachit kann auf zwei Wegen erfolgen:

- a) Die Kinetik der Markierung während der Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ zeigt eindeutig, daß bei *Acer pseudo-platanus* die Sequenz der Biogenese myo-Inosit $\rightarrow$ D-Bornesit $\rightarrow$ L-Quebrachit sein muß.

Entsprechend ergab die Fütterung von myo-Inosit- $u\text{-}^{14}\text{C}$ markierten D-Bornesit und markierten L-Quebrachit. Die Fütterung von D-Bornesit- $u\text{-}^{14}\text{C}$ ergab markierten L-Quebrachit.

Auch bei der Fütterung von L-Inosit- $u\text{-}^{14}\text{C}$ wurde markierter L-Quebrachit in geringem Umfang gebildet. L-Inosit wurde jedoch weder bei Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ noch bei der Fütterung von myo-Inosit- $u\text{-}^{14}\text{C}$ radioaktiv markiert.

- b) Die von Scholda et al. (1964) gefundene Bildung von L-Quebrachit in *Artemisia vulgaris* via myo-Inosit $\rightarrow$

L-Inosit $\rightarrow$ L-Quebrachit konnte durch Isotopenversuche in unserem Labor bestätigt werden.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen mit Acer wurde D-Bornesit weder bei Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ noch bei der Fütterung von myo-Inosit- ^{14}C radioaktiv markiert.

2. Der Gehalt von L-Quebrachit in den vegetativen Pflanzenteilen von Acer pseudo-platanus wies eine deutliche Abhängigkeit von der Tages- bzw. Jahreszeit auf :

- a) In den Laubblättern konnte an drei verschiedenen Tagen (Juni, Juli, September) jeweils am Nachmittag (16 Uhr) der höchste Gehalt und unmittelbar vor Sonnenaufgang der niedrigste Gehalt an L-Quebrachit gemessen werden.
- b) Im Sproß konnten die für einen Speicherstoff charakteristischen jahresperiodischen Veränderungen festgestellt werden. Im Herbst und während des Winters ist die Konzentration von L-Quebrachit am höchsten. Sie nimmt mit dem Beginn des Wachstums ab und erreicht im Juni bzw. Juli den kleinsten Wert. Dabei weist die Rinde einen größeren Unterschied zwischen Sommer und Winter auf als das Holz.
- c) Im Blutungssaft war L-Quebrachit bei allen Entnahmen über den Winter und das Frühjahr hinweg nach der Saccharose die zweitstärkste Kohlehydratfraktion. Der von Stinson et al. (1967) gefundene Konzentrationsabfall von L-Quebrachit im Blutungssaft von Acer saccharinum beim Öffnen der Knospen konnte auch bei Acer pseudo-platanus beobachtet werden.

Das tages- bzw. jahresperiodische Verhalten von L-Quebrachit gleicht grundsätzlich dem der in diesen Versuchen mitbestimmten Saccharose.

3. Achtstündige Photosyntheseversuche in $^{14}\text{CO}_2$ mit noch wachsenden bzw. expandierten Blättern (Frühjahr) und alten Blättern (Herbst) zeigten, daß ein größerer Prozentsatz des assimilierten $^{14}\text{CO}_2$ in die Methylinosite während der Blattentwicklung eingebaut wird als im ausgewachsenen Blatt.
4. Die Verteilung des ^{14}C in Sämlingen von Acer nach Photosynthese der Blätter in $^{14}\text{CO}_2$ bzw. nach Inkubation eines am Sämling belassenen Blattes mit L-Quebrachit- ^{14}C sprechen für eine Ableitung dieser Verbindung.
5. Die Untersuchungen über die Wiederverwendung der Inosite bei Acer ergaben, daß:
 - a) L-Quebrachit- ^{14}C im Sommer in der Rinde und im Holz zu markiertem L-Inosit und weiter zu markiertem myo-Inosit abgebaut wird. Radioaktiv markierte Methyluronsäuren wurden nicht gefunden. Bei einem Versuch im Juli trat in der Rinde auch radioaktiv markierte Glucose auf.
 - b) an Blätter verfütterter L-Quebrachit- ^{14}C nicht umgebaut werden kann.
 - c) D-Bornesit- ^{14}C nur als Zwischenprodukt bei der Bildung von L-Quebrachit und einer unbekannten Verbindung x fungiert.
 - d) myo-Inosit- ^{14}C sowohl zu den markierten Methylinositen als auch zu markierter Glucuronsäure umgewandelt werden kann.

5. Literaturverzeichnis

1. Anderson, L. und E.K.Wolter: Ann.Rev.Plant Phys. 17, 209 (1966)
2. Angyal, S.J. and L.Anderson: Adv. Carbohydr.Chem. 14, 135 (1959)
3. Avigad, G.: Carbohydrate Research 11, 119 (1969)
4. Bailey, R.W.: Journal of Chromatography 8, 57 (1962)
5. Chen, I.W. and F.C.Charalampous: Biochem.Biophys.Res. Comm. 19, 144 (1965)
6. Clark, E.P.: J.Amer.Chem.Soc. 58, 1009 (1936)
7. Curtis, O.F.: Amer.J.Bot. 7, 286 (1920)
8. Dittrich, P.: Dissertation Universität München (1970)
9. Dittrich, P. und O.Kandler: Phytochemistry, 11, 1729 (1972)
10. Eagle, H., V.I.Oyama, M.Levy and A.E.Freeman: J.Biol. Chem. 226, 191 (1957)

11. Fischer, H.: Handbuch für Pflanzenphysiologie,
Band VI, 952 (1958)
12. Fletcher, H.G.: Adv. Carbohydr.Chem. 3, 45 (1948)
13. Gibbs, M., P.K.Kindel and M.Busse in: Methods in
Carbohydrate Chem. Vol. II, Academic Press,
New York and London S. 496 (1963)
14. Girard, A.: C.R. hebdomadaires Acad.Sci. 73, 48 (1858)
15. Grubner, K.M. und O.Hoffmann-Ostenhof: Monatsh.Chem.
99, 1827 (1968)
16. Heyl, J.G.: Planta 20, 294 (1933)
17. Hirs, C.H.W., S.Moore and W.H.Stein: J.Biol.Chem.
195, 699 (1952)
18. Imhoff, V. et R.Bourdu: Phytochemistry 12, 331 (1973)
19. Jeremias, K.: Ber.Dtsch.Bot.Ges. Bd. 82, 87 (1969)
20. Jong, A.W.K.De: Rec.trav.chim. Pays-bas 25, 48 (1906)
21. Kandler, O.: Ber.Dtsch.Bot.Ges. LXXVII, 62 (1964)
22. Kauss, H. and W.Z.Hassid: J.of Biol.Chem. 242,
1680 (1967)
23. Kindl, H. J.Biedl-Neubacher und O.Hoffmann-Ostenhof:
Biochem.Z. 341, 157 (1965)
24. Kindl, H. und O.Hoffmann-Ostenhof: Chem.org.Naturstoffe
24, 149 (1966)
25. Kindl, H. und O.Hoffmann-Ostenhof: Phytochemistry 5,
1091 (1966)

26. Kindl, H. und O.Hoffmann-Ostenhof: Monatshefte für Chemie
97, 1771 (1966)
27. Kindl, H.: Ann.NY Acad.Sci. 165, 615 (1969)
28. Lidforss, B.: Bot.Zbl. 68, 33 (1896)
29. Loewus, F.A. and S.Kelly: Biochem.Biophys.Res.Comm.
7, 204 (1962)
30. Loewus, F.A. and S.Kelly: Arch.Biochem.Biophys.
102, 96 (1963)
31. Loewus, F.A.: Arch.Biochem.Biophys. 105, 590 (1964)
32. Loewus, F.A.: Federat.Proc. 24, 855 (1965)
33. Loewus, F.A.: Ann.NY Acad.Sci. 165, 577 (1969)
34. Loewus, F.A.: Ann.Rev. of Plant Phys. 22, 337 (1971)
35. Löhr, E.: Physiol. Plantarum 6, 529 (1953)
36. Lundegard, H.: Ark.Bot. 3, 89 (1955)
37. Malmy, M. et Bouvet, P.: J.Pharm.Chim. 2, 5 (1942)
38. Micheel, F.: Liebigs Ann. Chem. 496, 77 (1932)
39. Mothes, K. und C.Engelbrecht: Flora (Jena) 139,
568 (1952)
40. Münch, E.: Die Stoffbewegungen in der Pflanze. Jena:
Gustav-Fischer-Verlag (1930)
41. Parker, J.: Bot.Rev. 29, 123 (1963)
42. Neufeld, E.F. and C.W.Hall: Biochem.Biophys.Res.Comm.
19, 456 (1965)

43. Plouvier, V.: C.R.hebd.scéances Acad.Sci. 224,
1842 (1947)
44. Plouvier, V.: Ann.pharm.franc. 7, 192 (1949)
45. Plouvier, V.: C.R.hebd.scéances Acad.Sci. 236,
317 (1953)
46. Plouvier, V.: C.R.hebd.scéances Acad.Sci. 247,
2190 (1958)
47. Plouvier, V.: C.R.hebd.scéances Acad.Sci. 251,
131 (1960)
48. Plouvier, V.: C.R.hebd.scéances Acad.Sci. 253,
3047 (1961)
49. Plouvier, V.: Bull.Sec.Chim.Biol. 45, 1079 (1963)
50. Plouvier, V.: C.R.hebd.scéances Acad.Sci. 258,
2921 (1964)
51. Plouvier, V.: C.R.hebd.scéances Acad.Sci. 260,
1003 (1965)
52. Plouvier, V.: C.R.hebd.scéances Acad.Sci. 270,
560 (1970)
53. Porath, J.: Nature (London) 175, 478 (1955)
54. Posternak, Th., W.H.Schopfer, B.Kaufmann-Boetsch et
S.Edwards: Helv.Chim.Acta 46, 2676 (1963)
55. Beuter, G. und H.Wolfgang: Planta 142, 146 (1954)
56. Ruis, H. und O.Hoffmann-Ostenhof: Europ.J.Biochem.
7, 442 (1969)

57. Santarius, K.A.: Ber.Dtsch.Bot.Ges. Bd. 84, 425 (1971)
58. Scherer, J.: Liebigs Ann. Chem. 73, 322 (1850)
59. Scholda, R., G.Billek und O.Hoffmann-Ostenhof:
Monatsh.Chem. 95, 541 (1964)
60. Scholda, R., G.Billek und O.Hoffmann-Ostenhof:
Monatshefte Chem. 95, 1311 (1964)
61. Scholda, R., G.Billek und O.Hoffmann-Ostenhof:
Z.physiol.Chem. 335, 180 (1964)
62. Scholda, R., G.Billek und O.Hoffmann-Ostenhof:
Z.physiol.Chem. 339, 28 (1964)
63. Senser, M., P.Dittrich, O.Kandler, A.Thanbichler und
B.Kuhn: Ber.Dtsch.Bot.Ges. Bd. 84, 445 (1971)
64. Staedeler, G. und T.Frerichs: J.prakt.Chem. 73, 48 (1858)
65. Tanret, C.: C.R.hebd.séances Acad.Sci. 109, 908 (1889)
66. Thanbichler, A.: Dissertation Universität München (1973)
67. Trevelyan, W.E., D.D.Procter and J.S.H.Harrison:
Nature (London) 166, 444 (1950)
68. Wagner, I., Hoffmann H. und O.Hoffmann-Ostenhof:
Z.physiol.Chem. 350, 1460 (1969)
69. Weigel, H.: Adv. Carbohydr. Chem. 18, 61 (1962)
70. Wolfgang, H. und K.Mothes: Naturwiss. 40, 605 (1953)
71. Wooley, D.W.: J.Biol.Chem. 136, 113 (1940)
72. Ziegler, H.: Planta 47, 447 (1956)

Anhang

Tabellen und Abbildungen zu den Dauerversuchen mit Blättern von *Acer pseudo-platanus* im Sommer und Herbst 1970.

Tab. I: Sommer 1970

Angaben in % der Aktivität der löslichen Blattfraktion

Tab. II: Sommer 1970

Angaben in dpm/g Fgw.

Abb. I: Autoradiogramm des Blattextraktes nach 8 Std.

Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$

Abb. II: Autoradiogramm des Blattextraktes nach 8 Std.

Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ und 90 Tagen in $^{12}\text{CO}_2$

Tab. III: Herbst 1970

Angaben in % der Aktivität der löslichen Blattfraktion

Tab. IV: Herbst 1970

Angaben in dpm/g Fgw.

Die als Z_1 , Z_2 und Z_3 bezeichneten Verbindungen fluoreszieren im UV-Licht hellblau.

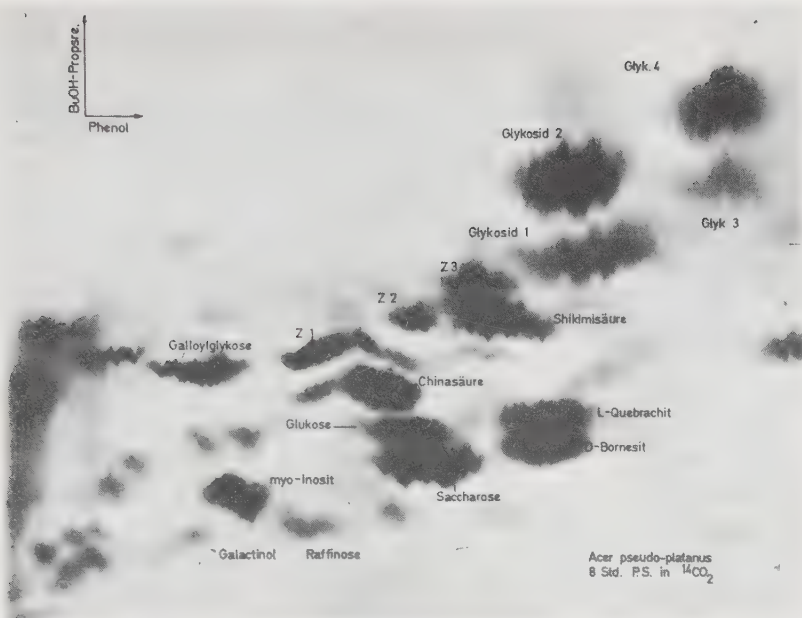
Die Glycoside 1-4 fluoreszieren im UV-Licht gelb bis braun. Nach Beräuchern mit Ammoniak wird die Intensität der Fluoreszenz stark erhöht.

Tab. I: Dauerversuch mit *Acer pseudo-platanus* im Sommer 1970.
Prozent der Aktivität der löslichen Fraktion.

Entnahme	19.5.	25.5.	29.5.	9.6.	19.6.	19.7.	19.8.	19.9.
Saccharose	4,7	0,9	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Glucose	0,6	0,5	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Fructose	0,6	0,6	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
myo-Inosit	1,6	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
D-Bornesit	2,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
L-Quebrachit	1,8	9,0	8,7	8,3	5,6	2,0	2,4	1,1
Chinasäure	16,3	12,1	12,1	13,4	10,7	6,6	7,0	6,7
Shikimisäure	2,3	3,3	2,9	2,0	1,5	0,0	0,0	0,0
Z 1	2,4	4,7	4,3	4,3	4,2	3,9	3,9	3,3
Z 2	1,9	2,5	2,9	3,7	3,3	4,1	5,4	5,8
Z 3	2,7	4,2	4,3	4,5	4,8	4,1	5,3	5,5
Glycosid 1	6,7	8,7	7,0	10,0	9,3	8,7	12,0	12,2
Glycosid 2	9,1	11,8	12,3	17,5	13,0	13,9	22,2	19,0
Glycosid 3	3,7	3,7	2,9	5,1	3,8	2,9	5,1	4,8
Glycosid 4	4,5	5,9	4,9	6,3	5,8	4,3	8,7	4,9

Tab. II: Dauerversuch mit *Acer pseudo-platanus* im Sommer 1970.
 Aktivität in 10^6 dpm/g FgW.

Entnahme	19.5.	25.5.	29.5.	9.6.	19.6.	19.7.	19.8.	19.9.
Lösliches	75,3	42,6	28,0	18,9	28,6	15,3	7,0	13,0
Saccharose	3,52	0,37	0,19	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Glucose	0,45	0,21	0,08	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Fructose	0,45	0,25	0,14	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
myo-Inositol	1,35	0,37	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
D-Bornesit	2,25	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
L-Quebrachit	1,12	3,78	2,43	1,49	1,56	0,3	0,16	0,14
Chininsäure	12,22	5,08	3,38	2,41	2,99	0,99	0,49	0,87
Shikimisäure	1,72	1,38	0,81	0,38	0,42	0,0	0,0	0,0
Z 1	1,80	1,97	1,20	0,77	1,09	0,58	0,27	0,42
Z 2	1,42	1,05	0,81	0,66	0,92	0,61	0,37	0,75
Z 3	2,02	1,76	1,20	0,81	1,34	0,61	0,37	0,71
Glycosid 1	5,02	3,65	1,96	1,80	2,60	1,30	0,84	1,58
Glycosid 2	6,82	4,95	3,44	3,15	3,64	2,08	1,55	2,47
Glycosid 3	2,77	1,55	0,81	0,91	1,06	0,43	0,35	0,62
Glycosid 4	3,37	2,47	1,37	1,13	1,62	0,64	0,60	0,63



I: Autoradiogramm des Blattextraktes von *Acer pseudo-platanus* nach 8 Std. P.S. in $^{14}\text{CO}_2$

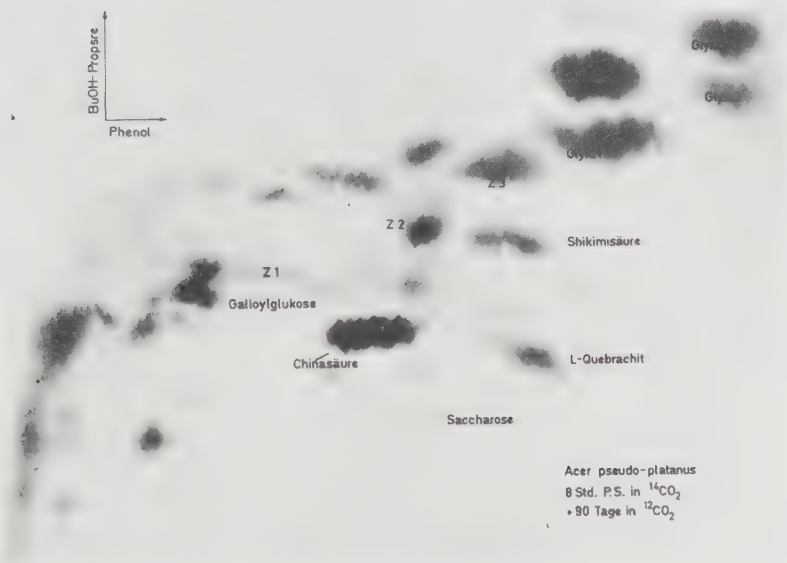


Abb. II: wie Abb. I, jedoch nach 90 Tagen in $^{12}\text{CO}_2$

Tab. III: Dauerversuch mit *Acer pseudo-platanus* im Herbst 1970.
Prozent der Aktivität der löslichen Fraktion.

Entnahme	19.9.	25.9.	14.10.
Saccharose	38,3	11,4	5,7
Galactinol	2,3	2,8	1,5
Raffinose	1,7	3,0	1,0
myo-Inosit	2,3	4,6	1,2
D-Bornesit	1,1	3,1	0,0
L-Quebrachit	0,3	4,7	1,8
Chinasäure	1,9	0,9	0,0
Shikimisäure	0,0	0,0	0,0
Glycosid 1	0,9	1,3	3,4
Glycosid 2	0,7	0,5	1,7
Glycosid 3	1,7	5,3	9,9
Glycosid 4	2,3	4,9	11,1

Tab. IV: Dauerversuch mit *Acer pseudo-platanus* im Herbst 1970.
Aktivität in 10^6 dpm/g Fgw.

Entnahme	19.9.	25.9.	14.10.
Lösliches	96,6	65,6	38,0
Saccharose	35,3	7,4	2,2
Galactinol	2,2	1,8	0,6
Raffinose	1,6	1,9	0,4
myo-Inosit	2,2	3,0	0,5
D-Bornesit	1,1	2,0	0,0
L-Quebrachit	0,3	3,1	0,7
Chinasäure	1,8	0,6	0,0
Shikimisäure	0,0	0,0	0,0
Glycosid 1	0,9	0,8	1,3
Glycosid 2	0,7	0,3	0,6
Glycosid 3	1,6	3,4	3,7
Glycosid 4	2,2	3,2	4,1

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Allgemeine Botanik der Ludwig-Maximilians-Universität München unter der Leitung von Herrn Professor Dr.O.Kandler angefertigt.

Herrn Prof. Kandler danke ich sehr herzlich für sein großes Interesse an meiner Arbeit, für die vielseitigen Anregungen und die stetige Anteilnahme an allen wissenschaftlichen und persönlichen Fragen.

Herrn Dr. P.Dittrich danke ich für wertvolle Hinweise und praktische Ratschläge.

Frau G.Martinelli danke ich für die sorgfältige und gewissenhafte technische Assistenz bei einem Teil der Versuche.

Lebenslauf

Geboren wurde ich am 18. Mai 1944 in Pillau (Ostpreußen) als zweiter Sohn des Ehepaares Wilhelm und Lieselotte Schilling. Nach dem Tode meiner Eltern nahm meine Tante 1951 mich zu sich nach Lindau.

Von 1955-1963 besuchte ich das dortige Realgymnasium. Im Wintersemester 1963/64 begann ich an der Universität München mit dem Studium der Fächer Chemie, Biologie und Geographie und legte im Frühjahr 1969 das Staatsexamen in Chemie und Biologie ab.

Die vorliegende Dissertation fertigte ich von 1969 bis 1972 am Botanischen Institut der Universität München an.

Im Frühjahr 1969 heiratete ich Fräulein Annick Treille.

